

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Anna Carolina Gartner Garbelotto

**CITOLOGIA ESFOLIATIVA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO
NA ODONTOLOGIA**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a conclusão do Curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Perozzo Daltoé
Departamento de Patologia, CCS,
UFSC

Florianópolis

2017

Catálogo na fonte elaborada pela biblioteca da
Universidade Federal de Santa Catarina

A ficha catalográfica é confeccionada pela Biblioteca Central.

Tamanho: 7cm x 12 cm

Fonte: Times New Roman 9,5

Maiores informações em:

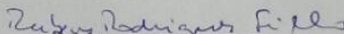
<http://www.bu.ufsc.br/design/Catalogacao.html>

Anna Carolina Gartner Garbelotto

**CITOLOGIA ESFOLIATIVA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO
EM ODONTOLOGIA**

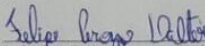
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Cirurgião-Dentista, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 26 de outubro de 2017



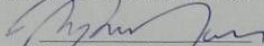
Prof. Dr. Rubens Rodrigues Filho
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Prof., Dr. Felipe Perazzo Daltoé
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª, Dr.ª Maria Inês Meurer,
Universidade Federal de Santa Catarina



Msc. Mariana Goveia Melo Ribeiro
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho aos meus estimados pais Alessandro e Claudia, pela graça da nossa conquista; e meus irmãos Bruno e Bernardo pelo amor mais puro e incondicional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, muito obrigada pelo dom da vida e gratidão. Por toda prece, saúde e família amorosa, eu tenho fé na proteção do Senhor.

Aos meus queridos pais Alessandro e Claudia, a quem devo todo o meu amor, zelo, respeito, gratidão e admiração. Tão cedo aprenderam e ensinaram o que é ser família, tenho orgulho de carregar os vossos nomes. Meu Pai, muito obrigada por todo apoio, os mais importantes aqueles dados muito antes de eu ser aprovada em Odontologia. Muito obrigada. Minha mãe, meu anjo na Terra, muito obrigada por olhar por mim sempre, pela amizade, dedicação e companheirismo. Muito obrigada. Aos dois, espero continuar sendo o orgulho de vossos olhos.

Aos meus irmãos Bruno e Bernardo, por iluminarem meus dias com um amor tão puro e divertido. A vocês que sempre fizeram parte de todas as minhas alegrias, muito obrigada.

Ao meu noivo Gabriel, pelo amor, compreensão, dedicação e paciência. Muito obrigada por cruzar tantas vezes o oceano e estar aqui comigo. Esta conquista também é sua.

A minha madrinha Carmen, por ter dedicado seu tempo e cedido seu teto, que me amparou por quatro dos cinco anos de faculdade. É uma graça te ter em minha vida por todos esses anos, muito obrigada por tudo.

A minha avó Sônia, por toda ajuda e apoio dados desde o início. Por me receber tão bem em vossa morada e por toda atenção e carinho, desde o dia em que eu nasci, muito obrigada.

As demais pessoas da minha família, pelas palavras de incentivo, carinho, compreensão e amor. Por estarem sempre presentes e orando por mim, muito obrigada.

Ao Professor Felipe Daltoé, por todas as oportunidades acadêmicas proporcionadas. Sou eternamente grata por termos iniciado o projeto de citologia esfoliativa juntos e por ter tido a graça de ser sua orientanda. Muito obrigada pela amizade e toda confiança depositadas em mim em todos esses anos.

As minhas amigas, por todo companheirismo, incentivo, alegria e apoio durante a minha trajetória acadêmica, por muitas vezes foram vocês o

motivo porque não faltei. Em especial, Luiza Carolina, por compartilhar senão todos os sentimentos destes últimos meses. Muito obrigada.

Ao meu amigo e dupla Paulo, com quem dividi todas as oportunidades de ensinar e aprender Odontologia. Do início ao fim, por todo companheirismo, admiração, compreensão, e, acima de tudo, respeito, muito obrigada.

A minha amiga Nilcéia e meu amigo Leandro, por toda amizade e carinho dedicados a me levar a UFSC quase todos os dias neste último ano, sou eternamente grata por toda alegria e jamais me esquecerei da vossa ajuda, muito obrigada.

A todos os ótimos mestres que tive a oportunidade de aprender durante toda a minha longa trajetória acadêmica, muito obrigada.

Aos meus queridos pacientes, que contribuíram tanto para minha formação acadêmica. Muito obrigada pela paciência, compreensão, e, acima de tudo, confiança.

Ao meu cão Maurício, que me ajudou a recuperar o equilíbrio depois de tanto cansaço, tristeza, solidão e frustração que o curso traz junto. És minha terapia.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, esta é vossa dedicatória.

***“O futuro pertence àqueles que acreditam
na beleza de seus sonhos.”***

(Eleanor Roosevelt)

RESUMO

A citologia esfoliativa (CE) é um método de diagnóstico baseado em uma avaliação microscópica de células descamadas da superfície epitelial, as quais podem ser coletadas com o auxílio de um *cytobrush* ou espátula, fixadas, coradas e analisadas em microscópio de luz. Este trabalho tem como objetivo discorrer sobre a importância da CE como método diagnóstico, assim como realizar uma revisão de literatura com intuito de exemplificar grande parte das aplicabilidades da CE assim como dos benefícios que este método pode trazer para os pacientes e profissionais da saúde envolvidos em fazer o diagnóstico de enfermidades bucais. A revisão da literatura foi feita através de pesquisa bibliográfica, objetivando trazer as últimas descobertas na área de CE, assim como discutir os métodos de coleta, os avanços científicos e obstáculos técnicos que a prática deste exame oferece e se depara. Dentre essas questões, serão abordados os diferentes métodos e instrumentos de coleta e processamento das amostras obtidas na cavidade oral, a finalidade do teste em diversas situações clínicas que podem ser desempenhadas pelo cirurgião-dentista assim como vantagens e desvantagens deste exame sobre outros métodos diagnósticos da cavidade oral. Apesar de ser uma técnica de diagnóstico bem sedimentada pela literatura, foi implementada muito recentemente no LPB-UFSC, o que a torna um importante objeto de discussão e difusão do seu uso e conhecimento através deste trabalho.

Palavras-chave: citologia esfoliativa, citologia em meio líquido, diagnóstico bucal.

ABSTRACT

Exfoliative cytology (EC) is a diagnostic method based on a microscopic evaluation of squamous cells of the epithelial surface, which can be collected with the assistance of a cytobrush or spatula, then fixed, stained and analyzed under a light microscope. This work aims to discuss the importance of EC as a diagnostic method, as well as to carry out a literature review with the aim to exemplify most of the EC applications and the benefits that this method can bring to the patients and health professionals involved in doing the diagnosis of oral diseases. The review of literature was performed through bibliographic research, aiming to bring the latest findings in the EC area, as well to discuss the different methods, advances and challenges that the practice of this exam offers and faces. Therefore, this work will present the methods and instruments for the collection and processing of the samples obtained in the oral cavity, the purpose of the test for several clinical situations as well as the advantages and disadvantages of this exam when compared with other diagnostic methods of the oral cavity. Although CE is a diagnostic technique well established by the literature, it has been implemented recently in the LPB-UFSC, which makes it therefore an important object for discussion and diffusion through this work.

Key words: exfoliative cytology, liquid cytology, oral diagnosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo de célula eurariota e algumas das suas principais estruturas e organelas.....	34
Figura 2 – Fotomicrografia de imagem histológica visualizada em microscopia de luz indicando as diferenças visuais entre eucromatina e heterocromatina.....	35
Figura 3 – Esquema representativo dos principais componentes do núcleo celular.....	35
Figura 4 – Exemplificação da diferença estrutural entre eucromatina e heterocromatina.....	36
Figura 5 – Tipos de epitélio comumente encontrados no corpo humano.....	37
Figura 6 – Epitélio Oral Queratinizado (A) e não queratinizado (B).....	38
Figura 7 – Fotomicrografia dos diferentes tipos de mucosa bucal especializadas. (A) mucosa mastigatória; (B) mucosa de revestimento e (C) mucosa especializada.....	39
Figura 8 – Células epiteliais da mucosa bucal humana. (A) Célula epitelial madura com aspetos morfológicos de normalidade, com núcleo oval, contornos regulares e tamanho proporcional à célula; (B) Célula epitelial com alterações sugestivas de malignidade, com núcleo apresentando formato e contorno irregulares, e relação núcleo-citoplasma aumentada.....	42
Figura 9 – Alterações celulares reacionais/inflamatórias mostrando células com aumento da relação núcleo-citoplasma, citoplasma mais denso e hiper cromático, irregularidades discretas no contorno nuclear, cromatina finamente granular e uniformemente distribuída (Coloração de Papanicolau, aumento 1.000x).....	44
Figura 10 – Citologia esfoliativa de carcinoma epidermóide bucal. (A) Células neoplásicas mostrando pleomorfismo celular e nuclear, aumento da relação núcleo/citoplasma, hiper cromasia nuclear, cromatina grosseiramente granular, membranas nucleares irregulares e citoplasma denso. (B) Pérola de ceratina. (C) Células arranjadas em sínício. (D) Canibalismo celular. Coloração de Papanicolau, aumento 1.000x).....	44
Figura 11 – Lâmina citológica de células epiteliais sadias de mucosa bucal mostrando o predomínio de células superficiais com citoplasma abundante e núcleo com tamanho e formato regulares típicos de uma Classe I de Papanicolau.....	48
Figura 12 – Alterações inflamatórias inespecíficas em células epiteliais da mucosa bucal: (A) Vacuolização citoplasmática. (B) Multinucleação reativa e nucléolos evidentes. (C) Halos perinucleares. (D) Aumento da relação núcleo citoplasma, cromatina pálida e "pulverulenta"; (E) Coloração citoplasmática bifásica. (F) Fundo com infiltrado inflamatório, sangue e bactérias.....	50

Figura 13 – Exemplos de bactérias coletadas por meio de citologia esfoliativa. (A) Colônia de <i>Actinomyces</i> próxima à uma célula epitelial	51
Figura 14 – Hifas de <i>Candida albicans</i> detectadas esfregaços de citologia esfoliativa bucal. (A) hifas coradas discretamente com coloração de Papanicolau; (B) Hifas coradas fortemente em rosa em coloração de PAS	52
Figura 15 – Célula epitelial com características morfológicas de infecção viral. (A) Células com infectada pelo vírus Herpes simples e com núcleo balonizante; (B) presença de vacúolos intra-citoplasmáticos; (C) Halo perinuclear (D) presença de células gigantes e células com inclusões intranucleares	53
Figura 16 – Infecção por <i>Entamoeba gingivalis</i> com presença de células epiteliais esfoliadas com fundo quebrado	53
Figura 17 – Citologia esfoliativa de um Pênfigo Vulgar mostrando. Células acantóticas com degeneração citoplásmica e nucléolos proeminentes	55
Figura 18 – Células epiteliais da mucosa bucal em área irradiada. (A) Pleomorfismo celular e nuclear com aumento da relação núcleo citoplasma. (B) Presença de célula epitelial multinucleada (Panótico, aumento 1.000x) (b) Brotamento nuclear (Hematoxilina e Eosina, aumento 1.000x)	56
Figura 19 – Citologia esfoliativa de mucosa bucal. (A) Células epiteliais da camada córnea, apresentando grande quantidade de grânulos de ceratina no seu citoplasma. (B) Estruturas anucleadas semelhantes às células compatíveis com ortoceratina. (B) Fragmento de paraceratina, onde pode ser observado a presença dos núcleos ovais	57
Figura 20 – Citologia esfoliativa de língua pilosa. Estruturas enegrecidas-amarronzadas correspondentes à fragmentos das papilas filiformes	58
Figura 21 – Grânulos de Fordyce. (A) Amostra coletada por meio de citologia esfoliativa mostrando células com grande quantidade de vacúolos lipídicos o que as torna compatíveis com grânulos de Fordyce (B) Corte histológico de grânulos de Fordyce apresentando lóbulos sebáceos semelhantes aos encontrados citologicamente	58
Figura 22 – Achados citológicos de uma tatuagem por amálgama. (A) Amostra demonstrando material amorfo, preto, compatível com amálgama. (B) Fragmento de amálgama levemente transluscente entremeado a um marcante fundo de sangue indicando sinal de trauma	59
Figura 23 – Células basais e parabasais coletadas por meio de citologia esfoliativa de uma macula melanocítica. As células mostram pigmento marrom granular em seus citoplasmas	60
Figura 24 – Amostra citológica obtida do centro de uma lesão ulcerada. Observam-se células inflamatórias, hemácias e exsudato fibrinopurulento mascarando a presença de células superficiais	61

Figura 25 – Amostras de citologia esfoliativa imprópria para análise em virtude da pobre distribuição celular, tornando impossível a interpretação individual das células.....	62
Figura 26 – Quantidade excessiva de muco e debris celulares sobre células epiteliais da mucosa bucal coletadas por meio de citologia esfoliativa. O obscurecimento das células impossibilitou completamente, nesse caso, a análise citológico da amostra.....	63
Figura 27 – Falha na coloração de Papanicolaou de células epiteliais da mucosa bucal. Neste caso, a coloração acinzentada atípica de todas as células da amostra foi devido a exposição accidental da lâmina a uma solução de formalina.....	63
Figura 28 – Coleta do material citológico com auxílio de um Cytobrush	64
Figura 29 – Instrumentos que podem ser utilizados para obter amostra citológica. (A) Espátula de madeira, espátula metálica e cytobrush. (B) Curetas citológicas.....	64
Figura 30 – Citologia esfoliativa de células epiteliais da mucosa bucal coradas com Papanicolaou. (A) Células epiteliais superficiais coradas em alaranjado e células intermediárias coradas em azul-esverdeado (aumento de 40x).....	67
Figura 31 – Candidíase corada em rosa-choque com PAS	68
Figura 32 – Célula multinucleada coletada por meio de citologia esfoliativa, exibindo, em seu interior, fungos de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> evidenciados pela coloração de Gomori-Grocott.....	68
Figura 33 – Células plasmocitoides coletadas por meio de punção aspirativa por agulha fina e coradas com Panotico, sugestivas de adenoma pleomorfo.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características morfológicas citológicas de células epiteliais sadias e neoplásicas em mucosa bucal.....	45
Tabela 2 - Sistema de classificação de grau de displasia utilizada no LPB-UFSC.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE – Citologia Esfoliativa

ATP – trifosfato adenosina

OMS – Organização Mundial de Saúde

INCA – Instituto Nacional do Câncer

CEB – Carcinoma Epidermóide Bucal

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

MCV – *Molluscum contagiosum vírus*

EA – Eosina Azurre

PAS – Ácido Periódico de Schiff

PAAF – Punção Aspirativa por Agulha Fina

AgNORs - Argyrophilic Nucleolar Organizer Region

LPB – Laboratório de Patologia Bucal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	27
1.1 OBJETIVOS.....	28
1.1.2 OBJETIVO GERAL.....	28
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
2 METODOLOGIA.....	31
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	33
3.1. A CÉLULA	33
3.2. OS TECIDOS ORAIS	37
3.3. APLICABILIDADES CLÍNICAS DA TÉCNICA DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA.....	39
3.3.1 CITOLOGIA ESFOLIATIVA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE CÂNCER BUCAL	40
3.3.1.1 SISTEMA DE GRADUAÇÃO DO CÂNCER BUCAL DIAGNOSTICADO POR MEIO DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA BUCAL DA UFSC.....	46
3.4 CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES NÃO NEOPLÁSICAS DA CAVIDADE BUCAL.....	48
3.4.1 ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS INESPECÍFICAS	49
3.4.2 DOENÇAS CAUSADAS POR BACTÉRIAS	50

3.4.3 DOENÇAS FÚNGICAS	51
3.4.4 DOENÇAS VIRAIS	52
3.4.5 DOENÇAS PARASITÁRIAS	53
3.4.6 DOENÇAS AUTOIMUNES	54
3.4.7 PACIENTES SUBMETIDOS A RADIOTERAPIA.....	55
3.4.8 HIPERCERATOSES	56
3.4.9 LINGUA PILOSA	57
3.4.10 GRÂNULOS DE FORDYCE	58
3.4.11 TATUAGEM POR AMÁLGAMA	59
3.4.12 MÁCULA MELANOCÍTICA	60
3.5. PRINCIPAIS ACHADOS QUE PODEM DIFICULTAR O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO ORAL.....	61
3.5.1 HEMORRAGIA	61
3.5.2 SOBREPOSIÇÃO E DISTORÇÃO DA MORFOLOGIA CELULAR.....	61
3.5.3 DEBRIS	62
3.5.4 COLORAÇÃO IMPRÓPRIA	63
3.6 A COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA.....	64
3.7 TIPOS DE COLORAÇÕES UTILIZADAS EM CITOLOGIA ESFOLIATIVA	66

3.7.1 COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU (PAP)	66
3.7.2 ÁCIDO PERIÓDICO-SCHIFF (PAS)	67
3.7.3 GROCOTT-GOMORI	68
3.7.4 PANÓTICO (ROMANOWSKY STAIN).....	69
3.8 TÉCNICAS COMPLEMENTARES À ANÁLISE MORFOLÓGICA PARA DIAGNÓSTICO A PARTIR DE MATERIAL COLETADO POR MEIO DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA.....	69
4 DISCUSSÃO.....	71
5 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A Citologia, per se, é a ciência que estuda as células e estruturas que compõem órgãos e tecidos dos seres vivos. A Citologia Esfoliativa, por sua vez, é um método diagnóstico de doenças a partir da observação morfológica em microscopia de luz das células obtidas por meio de esfregaços ou aspirações. As aspirações podem ser realizadas a partir de conteúdos líquidos ou de tecidos moles e, por isso, requerem um processamento especial para sua análise. Dependendo da técnica de processamento utilizada, acabam recebendo nomes diferentes, como “punção aspirativa por agulha fina” ou ainda “cell block” (MOINFAR, 2012).

A técnica de citologia que visa coletar as células por meio de esfregaços (esfoliação) denomina-se citologia esfoliativa (CE) a qual faz, comumente, o uso de escovas ou espátulas para adquirir as células ao invés de seringas e agulhas. Esse material é então fixado, corado e submetido à análise microscópica (DOLENS, et al 2007).

A CE foi desenvolvida ainda no século XVIII, pelo bacteriologista francês Alfred François Donné (1801–1878), quando a utilizou para dar diagnóstico de vaginite por *T. vaginalis* (DONNÉ, 1835). Seu contemporâneo, o biólogo alemão Johannes Peter Muller (1801–1858), foi o pioneiro, no entanto, a descrever a forma como o câncer de origem epitelial e suas células atípicas poderiam ser detectados a partir das células esfoliadas do epitélio (MULLER, 1838). Apesar da sua relevância, foi somente em 1941, no entanto, que a CE foi reconhecida como uma prática diagnóstica de maior importância, principalmente no contexto de diagnóstico precoce de câncer de colo de útero pelo médico grego George Papanicolaou (PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941). Neste ano, Papanicolaou fez história na ciência ao apontar evidências concretas da efetividade do uso deste método para o diagnóstico de doenças malignas em colo de útero. Três décadas depois, Folsom et al (1972) testaram e confirmaram a efetividade dessa técnica para diagnóstico de doenças malignas de origem epitelial também em cavidade bucal. Desde então, utilizam-se, até hoje, alguns dos critérios de análise citológica descritas por Papanicolaou e adaptados por Folsom para o diagnóstico de doenças bucais, os quais serão descritos em detalhes ao longo desse trabalho.

No decorrer da história, a técnica de CE vem sofrendo adaptações para ser aplicada a outros tipos de tecidos que não somente aos epitélios de revestimento bucal (OGDEN, 1997) e vagina (PAPANICOLAOU;

TRAUT, 1941; TASCA et al., 2002), mas também fluidos corporais como o exsudato fistular, secreção bronquial e muco cervical, por exemplo (BIBBO, M.; WILBUR, 2008; DIAMANTIS, A; MAGIORKINIS, 2014; MOINFAR, 2012).

Na área médica, observa-se que a CE é um método diagnóstico extremamente difundido e amplamente utilizado, principalmente na análise de lesões cérvico-uterinas (KAZANOWSKA; HALON; RADWAN-OCZKO, 2014; PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941; TASCA et al., 2002). No entanto, na área odontológica, pode-se dizer que a citologia esfoliativa ainda é uma técnica pouco e mais recentemente utilizada (DOLENS et al., 2007; SILVA et al., 2014)

Achados mais recentes corroboram com os indícios encontrados ao longo da história do desenvolvimento da técnica de CE afirmando que ela se trata de um método de alta relevância no diagnóstico precoce de lesões epiteliais malignas e pré-malignas de mucosa oral uma vez que possui alta sensibilidade e especificidade (DOLENS, et al 2007). Ademais, a CE aparenta ser uma técnica cuja execução causa mínima morbidade e boa aceitação psicológica pelo paciente. Isso por que a coleta do material é minimamente invasiva e não envolve anestesia e/ou cirurgia, fazendo com que o paciente tenha uma melhor aceitação da mesma (LUCENA et al., 2010; MEHROTRA, 2013; MOINFAR, 2012). Dentre as indicações da CE em lesões bucais, destacam-se as suspeitas de lesões epiteliais malignas ou pré-malignas, lesões epiteliais amplas ou múltiplas, o controle clínico da evolução de doenças fúngicas, virais ou neoplásicas assim como no acompanhamento clínico de lesões epiteliais que, de alguma maneira, estão impedidas da realização de biópsia (LUCENA et al., 2010; MEHROTRA, 2013; MOINFAR, 2012). Em suma, é pelo caráter de importância da técnica de CE como ferramenta diagnóstica em Odontologia que este trabalho se apresenta, se justifica e será desenvolvido a seguir.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GERAL

Discorrer sobre a importância da citologia esfoliativa como método diagnóstico em Odontologia.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Destacar as vantagens e desvantagens deste método em relação a outros métodos de diagnóstico;
- Descrever os diferentes tipos de exames citológicos e suas principais aplicabilidades clínicas;
- Abordar as diferentes metodologias de processamento da citologia esfoliativa, com ênfase nos métodos convencional (esfregaço) e meio líquido, assim como os diferentes resultados obtidos com cada técnica;
- Exemplificar as principais técnicas complementares à análise morfológica.

2 METODOLOGIA

A revisão de literatura foi realizada por meio de pesquisa bibliográfica em livros texto da área e também online, buscando artigos publicados em Inglês e Português, sem data limite de publicação específica. Isso foi feito utilizando-se da rede de internet da Universidade Federal de Santa Catarina uma vez que a instituição tem acesso às publicações das bases de dado utilizadas: PubMed e Bireme. Os termos utilizados para a busca na base de dados Pubmed foram *Exfoliative Cytology*, *Oral*, *Liquid-base* e *Conventional*; e, para busca na base de dados Bireme, Citologia Esfoliativa, Oral, Meio-líquido e Convencional.

Os artigos foram primeiramente selecionados pelo seu título, seguidos do seu resumo. O processo inicial de triagem foi finalizado com a leitura na íntegra e inclusão no trabalho dos artigos que tiverem relevância para o tema. Ao decorrer da redação, também foram utilizados artigos selecionados independentemente das palavras-chave iniciais, com a necessidade de complementar a revisão. Com isso, então, objetivou-se facilitar a etapa de redação da revisão de literatura, onde os dados obtidos da literatura foram compilados descritivamente, comparados e discutidos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A CÉLULA

As células são as unidades estruturais e funcionais mais básicas de todos os organismos vivos celularizados e as estimativas sobre a sua contagem total em um corpo humano é controversa e varia muito de indivíduo para indivíduo. Embora os principais componentes das células sejam muito semelhantes entre um tipo celular e outro, as células podem seguir inúmeros caminhos de diferenciação o que, por conseguinte, resulta em ampla variação de morfologia e funções celulares (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

As células que compõem o corpo humano são do tipo eucarióticas, o que significa que possuem suas estruturas compartimentalizadas por membranas formando diversos compartimentos e regiões especializadas (Figura 1). O seu material genético (DNA), por exemplo, está envolto pela membrana nuclear e fica restrito a uma área denominada núcleo. Este também contém proteínas encarregadas de reparar, replicar e transcrever o genoma. Externamente, as células humanas são delimitadas por outra membrana, denominada de membrana celular, a qual assegura à célula a sua entidade espacial, funcional e proteção física do ambiente. É a membrana celular, por exemplo, que permite que a célula sobreviva a ambientes que seriam prejudiciais aos componentes celulares, tais como condições extremas de pH e concentrações iônicas diferentes do citoplasma. Ademais, é ela quem controla o que está entrando e saindo de uma célula como água, nutrientes e metabólitos (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

Ainda no núcleo celular, pode-se observar em microscopia óptica de luz a presença de nucléolo e cromatina (Figura 2). Esta última representa uma estrutura complexa de proteínas e DNA, que são responsáveis por decodificar as informações genéticas do organismo. A distribuição e organização da cromatina dependem de diversos fatores, como o tipo celular, o grau de diferenciação, metabolismo, fase de divisão celular, dentre outros. Didaticamente, a cromatina pode ser identificada de duas formas: a eucromatina, que contém regiões ativas de decodificação de material genético, e a heterocromatina, que representa o complexo de DNA que está densamente compacto em

histonas (Figura 3 e 4). As secções de DNA não transcritos estão geralmente conservadas na heterocromatina (BIBBO, M.; WILBUR, 2008). Em uma célula epitelial da mucosa bucal em estado sadio, a cromatina deve apresentar-se descondensada, ou seja, aberta em forma de eucromatina e distribuída de forma homogênea dentro do núcleo celular, pois os cromossomos só se tornam visíveis quando a célula está prestes a se dividir (ALBERTS, 2011).

Além da cromatina, pode-se observar no núcleo a presença de nucléolos, que são estruturas responsáveis pela coordenação dos processos envolvidos na divisão celular. Ou seja, quanto maior seu número ou tamanho, mais ativa é a produção de proteínas para este fim (ALBERTS, 2011).

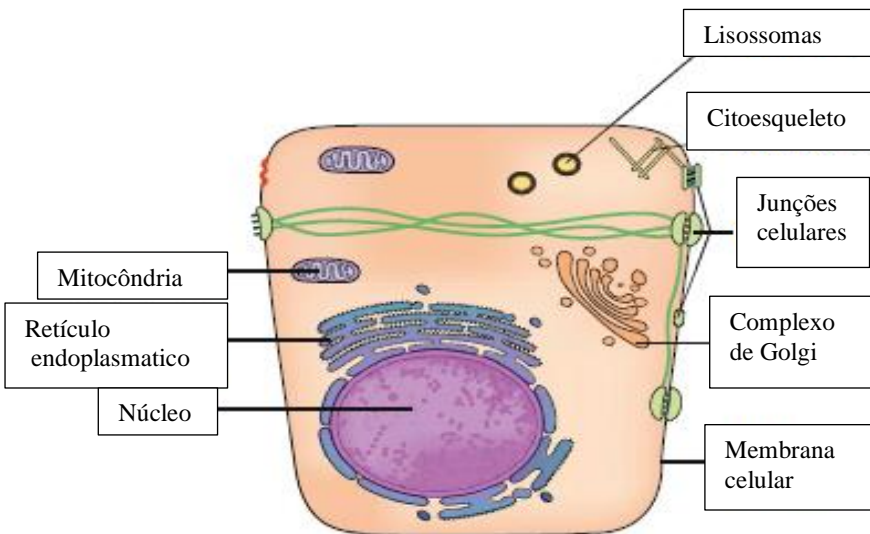


Figura 1. Exemplo de célula eucariota e algumas das suas principais estruturas e organelas (Fonte: Adaptado de Alberts, 2011).

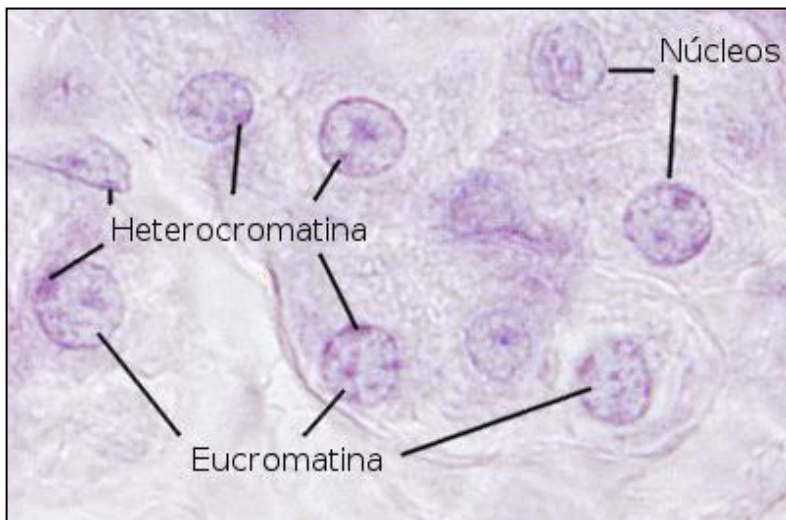


Figura 2. Fotomicrografia de imagem histológica visualizada em microscopia de luz indicando as diferenças morfológicas entre eucromatina e heterocromatina (Fonte: <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/imagenes/04-cromatina-o.png>).

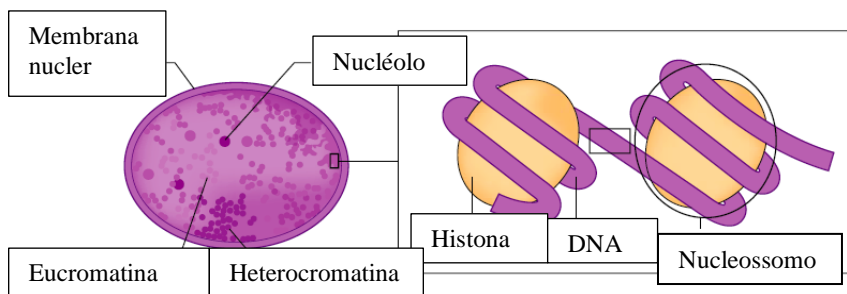


Figura 3. Esquema representativo dos principais componentes do núcleo celular (Fonte: Adaptado de Bibbo & Wilbur, 2008).

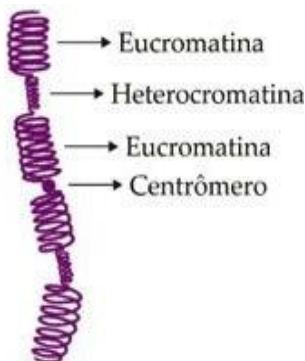


Figura 4. Exemplificação da diferença estrutural entre euromatina e heterocromatina (Fonte: <https://i2.wp.com/interna.coceducacao.com.br/ebook/content/pictures/2002-41-141-28-i004a.jpg>).

As demais estruturas celulares estão dispostas em um espaço entre o núcleo e a membrana celular, chamado citoplasma. Neste, encontramos as mais diversas organelas, as quais são unidades estruturais com funções específicas como foi ilustrado, previamente, na Figura 1. Dentre elas, podem-se citar as mitocôndrias, por exemplo, as quais são responsáveis pelo processamento dos nutrientes e produção de energia em forma de ATP; o retículo endoplasmático, responsável pelo empacotamento e entrega de proteínas recém-sintetizadas pelos ribossomos; os lisossomos, que reciclam materiais internos e externos às células como organelas e debris provenientes da circulação sanguínea, respectivamente; e o complexo de Golgi, que está incumbido de transportar material para dentro e fora da célula e realizar modificações bioquímicas complexas em proteínas sintetizadas pelos ribossomos. Além das organelas, encontram-se presentes no citoplasma o citoesqueleto, o qual tem um papel crucial na manutenção do arcabouço celular (controle de forma e contornos), divisão e diferenciação celulares; e as junções celulares, como desmossomos e hemidesmossomos, que conferem adesão das células umas às outras e também estão envolvidos na comunicação intercelular (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

3.2 OS TECIDOS BUCAIS

Compondo a cavidade bucal podemos encontrar diferentes tipos de tecidos como, por exemplo, os tecidos duros (ósseo e dentário), glandulares, musculares, adiposo, linfoide e epitelial, os quais são responsáveis pelas mais diversas funções (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). O epitélio de revestimento da cavidade bucal, no entanto, será o que ganhará maior atenção ao longo deste trabalho, uma vez que o mesmo é mais sujeito à análise por citologia esfoliativa - a qual é foco deste estudo.

O tecido epitelial pode ser classificado de acordo com sua função em glandular ou de revestimento. Os epitélios de revestimento do corpo humano, por sua vez, podem apresentar células com diferentes formatos e dispostas tanto em uma camada única (simples), em multicamadas, ou estratos (figura 5). O epitélio que reveste a mucosa bucal, mais especificamente, é do tipo pavimentoso estratificado, ora ceratinizado (figura 6), ora não-ceratinizado (Figura 6B). Esta denominação do epitélio de revestimento da mucosa bucal deve-se, pois suas células superficiais são achatadas, lembrando um pavimento (pavimentoso), possui mais de uma camada de células (estratificado) e estas podem produzir ou não ceratina (ceratinizado e não ceratinizado, respectivamente). Subjacente a ele, encontra-se o tecido conjuntivo de nutrição e suporte denominado lâmina própria, no qual podemos encontrar vasos sanguíneos, fibroblastos, células inflamatórias, tecido glandular, linfoide muscular e adiposo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

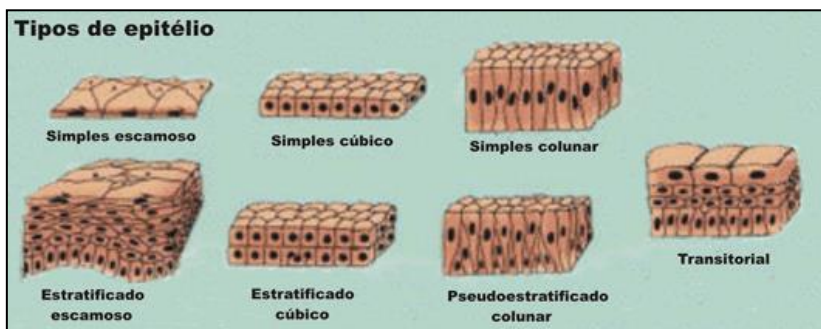


Figura 5. Tipos de epitélio comumente encontrados no corpo humano (Fonte: <http://www.sobiologia.com.br/figuras/Histologia/epitelio2.jpg>)

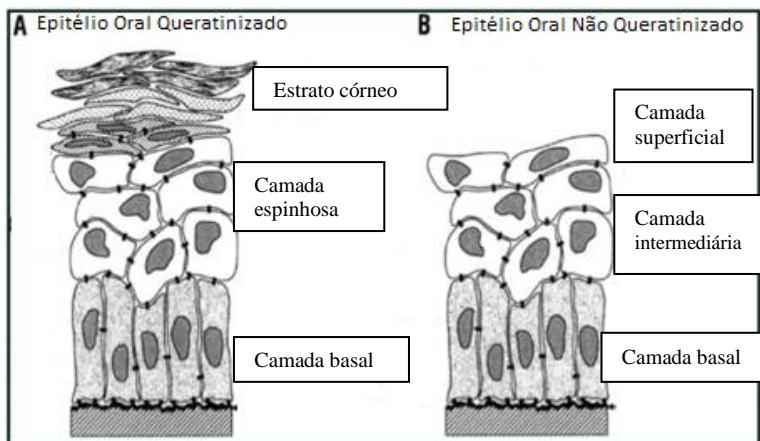


Figura 6. Epitélio Oral Queratinizado (A) e não queratinizado (B). (Fonte: Adaptado de http://www.omjournal.org/images/images%20092012/review_2.jpg).

Do ponto de vista de função, a mucosa bucal pode ser dividida em três subtipos: de revestimento, mastigatória e especializada. A mucosa de revestimento é composta por um epitélio pavimentoso estratificado não ceratinizado e cobre a parte interna dos lábios e bochechas, assoalho da boca e parte ventral da língua (Figura 7A). Na sua lâmina própria, fica uma grande quantidade de glândulas salivares menores, responsáveis por uma série de funções bucais, dentre elas, a lubrificação da cavidade bucal. A mucosa mastigatória é constituída por um epitélio pavimentoso estratificado ceratinizado e é encontrada em lugares mais passíveis de abrasão, como o palato e a gengiva, em decorrência dos movimentos fisiológicos da mastigação (Figura 7B). A mucosa especializada é encontrada apenas no dorso e bordas laterais da língua, conferindo uma camada fina de mucosa repleta de terminações nervosas com função de nocicepção, tato e paladar (Figura 7C). A superfície dorsal da língua, em especial, é caracterizada por ter minúsculas projeções de mucosa chamadas de papilas, as quais contribuem para a percepção fina do paladar. A lâmina própria deste tipo de mucosa é mais densa e, praticamente, contínua aos músculos glossais da mastigação. Por fim, vale dizer que ainda existe uma área de mucosa bucal que é considerada uma mucosa de transição uma vez que está localizada entre o epitélio não ceratinizado da mucosa dos lábios e o epitélio ceratinizado da pele. Esta mucosa de transição também é

conhecida como vermelhão dos lábios (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

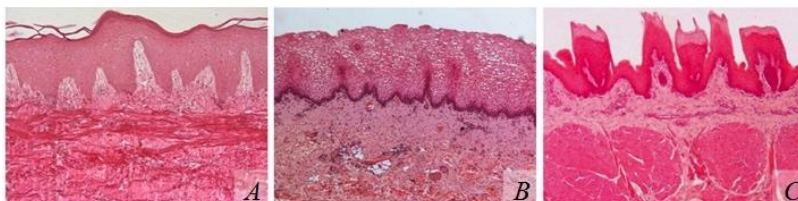


Figura 7. Fotomicrografia dos diferentes tipos de mucosa bucal especializadas: (A) mucosa mastigatória; (B) mucosa de revestimento e (C) mucosa especializada (Fonte: <https://lh4.googleusercontent.com/-YHMZHsxNr6c/TYyuBoGV06I/AAAAAAAAAMI/RbdCI1NNfQM/s1600/PAREDES1.jpg>)

3.3 APLICABILIDADE CLÍNICA DA TÉCNICA DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA

Conforme abordado nos tópicos anteriores, a CE é um método de diagnóstico baseado em uma avaliação microscópica de células descamadas da superfície epitelial e coletadas com o auxílio de uma mini-escova (*cytobrush*) ou espátula (DOLENS, et al 2007).

Um epitélio normal esfolia-se naturalmente de maneira contínua, uma vez que as células da camada basal estão em constante proliferação e, à medida que atingem os estratos superiores, diferenciam-se, morrem e se desprendem da superfície. Esse processo de esfoliação e renovação celular é natural e necessário para manter a espessura do tecido. Em mucosas saudáveis, as células epiteliais estão fortemente aderidas umas às outras, mas, na presença de alterações inflamatórias ou neoplásicas, muitas vezes, perdem a sua força coesiva, o que facilita ainda mais a sua coleta por esfoliação (SHARBATDARAN et al., 2007).

Nesse sentido, dentre as principais aplicabilidades da CE, destacam-se o diagnóstico precoce de lesões epiteliais malignas e pré-malignas (PÉREZ-SAYÁNSM et al, 2010), diagnóstico de infecções fúngicas bucais por *Candida sp.* (ALTARAWNEH et al, 2014) e *Paracoccidioides brasiliensis* (BIBBO, M.; WILBUR, 2008), doenças

causadas por bactérias, vírus e parasitas (MEHROTRA, 2013), dentre vários outros discutidos com mais detalhes a seguir.

3.3.1 CITOLOGIA ESFOLIATIVA COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE CÂNCER BUCAL

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), o câncer de boca está dentre as causas mais comuns de morte por neoplasias do mundo. Na última estimativa publicada por esse órgão no ano de 2012, estimou-se 14 milhões de novos casos de câncer bucal e um aumento em 70% na incidência nos próximos 20 anos (OMS, 2012).

Em um panorama nacional, segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), foram estimados 15.490 mortes por câncer bucal no ano de 2016, sendo destas, 11.140 em homens e 4.350 em mulheres. As pessoas fumantes são aquelas que apresentam maior risco, sendo este ainda maior se associado ao consumo de álcool. Outro importante fator de risco é a exposição crônica à radiação solar, sendo esta apontada como a principal causa de câncer nos lábios (INCA, 2016).

As lesões bucais que tem os maiores potenciais de malignidade são a leucoplasia, a eritroplasia e a queilite actínica (NEVILLE et al., 2009). A leucoplasia caracteriza-se como uma placa esbranquiçada, não removível à raspagem e que não pode ser classificada clínica ou histopatologicamente como qualquer outra doença. Seguindo a mesma definição, a eritroplasia, por sua vez, é classificada como uma mancha vermelha que não pode ser também, clínica ou histopatologicamente diagnosticada como qualquer outra condição. Já no caso da queilite actínica, esta se forma nos lábios e está diretamente relacionada à exposição crônica à radiação ultravioleta (NEVILLE et al., 2009).

De maneira geral, pode-se considerar que os fatores de risco para o desenvolvimento de lesões malignas e pré-malignas são o uso de tabaco (tanto masca como fumo), o etilismo, a infecção pelo vírus HPV e a radiação solar (INCA 2017). Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 90% dos pacientes diagnosticados com câncer de boca são tabagistas. Dos 4 fatores de risco citados acima, o cigarro, portanto, representa o maior fator de risco para o desenvolvimento de lesões malignas e potencialmente malignas e, quanto maior o seu consumo maior seria esse risco (INCA, 2017). No que diz respeito ao etilismo,

este parece potencializar o risco quando associado ao hábito do tabagismo e quando praticado com regularidade (INCA, 2017).

No Brasil, a boca representa o quinto local de maior incidência de câncer em homens, excluindo-se o câncer de pele não-melanoma (INCA, 2017). Dentre as lesões malignas que mais comumente se desenvolvem na cavidade bucal, destaca-se o carcinoma epidermóide bucal (CEB). Este, também conhecido como carcinoma de células escamosas, carcinoma escamocelular e carcinoma espinocelular, é uma neoplasia maligna que se origina no epitélio de revestimento e o seu desenvolvimento está intimamente relacionado ao consumo de fumo e álcool (BRENER et al., 2007).

Levando em consideração que os carcinomas bucais são neoplasias malignas de origem epitelial, o seus diagnósticos são realizados, portanto, com base na análise morfológica das células epiteliais da mucosa bucal. Nelas é observado uma grande variedade de aspectos estruturais de todos os constituintes celulares visíveis à microscopia óptica de luz. Dentre eles, destacamos o núcleo. Neste, algumas das primeiras características analisadas são o seu tamanho e formato. O tamanho do núcleo de uma célula epitelial da mucosa bucal sadia varia de acordo com o estrato epitelial de onde a célula coletada provém. As células da camada basal têm núcleo maior e citoplasma menos abundante comparativamente às células dos estratos mais superiores. O núcleo deve ter o formato circular ou oval e contornos regulares. Como regra geral, em um tecido sadio, células de uma mesma camada possuem uma relação de tamanho núcleo-citoplasma similar entre si. No entanto em casos onde o tecido epitelial encontra-se em proliferação intensa, seja por algum estímulo inflamatório, por exemplo, ou por um processo neoplásico, a relação núcleo-citoplasma pode ser altamente variável de célula para célula e, comumente, está aumentada (Figura 8). Além disso, nesses casos, as células estão distribuídas de maneira desordenada ao longo dos estratos teciduais, o que permite encontrar células mais indiferenciadas (da camada basal) em extratos mais superiores do epitélio, onde, comumente, não estariam presentes (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

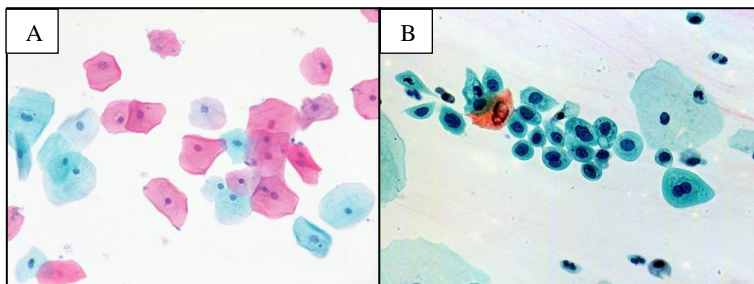


Figura 8. Células epiteliais da mucosa bucal humana. (A) Células epiteliais superficiais com aspetos morfológicos de normalidade, com núcleo oval, contornos regulares e tamanho proporcional à célula; (B) Células epiteliais mais indiferenciadas, com alterações sugestivas de malignidade, com núcleo apresentando formato e contorno irregulares, e relação núcleo-citoplasma aumentada.

Outros componentes nucleares que também devem ser analisados são a densidade e padrão de distribuição da cromatina, o padrão de coloração (hipo, normo ou hipercromasia) e o tamanho, formato e quantidade de nucléolos (BIBBO, M.; WILBUR, 2008). A cromatina de uma célula epitelial descamada fisiologicamente se apresenta, comumente, distribuída homogeneamente e sem sinais de hipercromasia. Os nucléolos, por sua vez, são áreas de condensação de material genético especializadas na síntese de DNA ribossomal. Estas áreas, portanto, estão intimamente relacionadas à síntese proteica e ao controle do processo de divisão celular. Normalmente, podem ser visualizados de um a dois nucléolos em um célula epitelial sadia, sendo que estas áreas estão normalmente e discretamente mais coradas dentro do núcleo celular. Em estados de divisão celular exacerbada (inflamação, por exemplo) ou descontrolada (neoplasias) os nucléolos podem ser múltiplos e, comumente, bastante evidentes. Já, a hipercromasia nuclear – aumento da intensidade de coloração do núcleo - é decorrente de um aumento aparente da quantidade de cromatina no núcleo, que também é indicativo de maior atividade celular (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

O citoplasma, por sua vez, diante de processos reativos (fisiológicos ou não) pode mostrar várias alterações morfológicas, incluindo vacuolização, maior granulosidade e extensões (projeções) citoplasmáticas. Em células sadias, o citoplasma aparenta ter pouca opacidade (passível de passagem de luz), organelas pouco evidentes e

homogeneamente distribuídas e, quando corado com Papanicolaou, pode demonstrar-se bifásico (cianófilo, ou seja, em tons de azul e eosinófilico, em tons de rosa) (MEHROTRA, 2013).

Conforme abordado acima, muitas alterações morfológicas encontradas nas células epiteliais podem decorrer de alterações fisiológicas reparativas benignas, como, por exemplo, nos processos inflamatórios. A distinção entre as alterações morfológicas encontradas nesses processos benignos e nas neoplasias malignas, no entanto, é algo subjetivo e baseia-se nos mínimos detalhes morfológicos (MEHROTRA, 2013).

De maneira geral, os núcleos das células com atipias neoplásicas são aumentados, hipercromáticos, com granulosidade acentuada e possuem membranas nucleares irregulares. Já os núcleos de células com alterações inflamatórias podem estar aumentados, mas frequentemente são hipocromáticos (pálidos), tem contornos regulares e cromatina uniforme e finamente granular (Figura 9). A presença de células inflamatórias na lâmina também pode favorecer o diagnóstico de alterações reacionais em detrimento de neoplásicas (MEHROTRA, 2013).

Ademais, em neoplasias epiteliais as células podem estar organizadas como células únicas, placas ou aglomerados sinciciais. Um sincício é um grupo tridimensional de núcleos hipercromáticos arranjados e dispostos ao acaso. Os limites celulares comumente não são muito bem definidos. As figuras mitóticas e os corpos apoptóticos podem ser vistos com mais frequência. Há uma variação acentuada na forma e tamanho nuclear e celular (pleomorfismo). Em lesões bem diferenciadas podem-se observar células com produção de ceratina prematura e pérolas de ceratina. Ocasionalmente, algumas células malignas podem apresentar um comportamento canibalístico o que permite observar a inclusão de uma célula por outra célula (Figura 10). O fundo da amostra pode mostrar necrose e uma dispersão de fragmentos citoplasmáticos (anormais) (MEHROTRA, 2013).

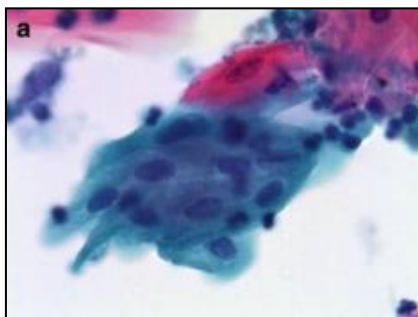


Figura 9. Alterações celulares reacionais/inflamatórias mostrando células com aumento da relação núcleo-citoplasma, citoplasma mais denso e hiperchromático, irregularidades discretas no contorno nuclear, cromatina finamente granular e uniformemente distribuída (Coloração de Papanicolau, aumento 1.000x). (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

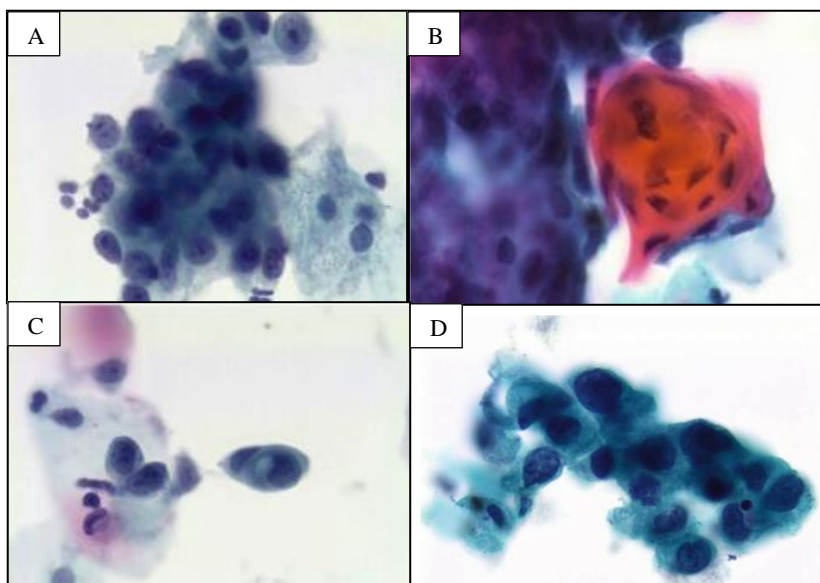


Figura 10. Citologia esfoliativa de carcinoma epidermóide bucal. (A) Células neoplásicas mostrando pleomorfismo celular e nuclear, aumento da relação núcleo/citoplasma, hiperchromasia nuclear, cromatina grosseiramente granular, membranas nucleares irregulares e citoplasma denso. (B) Pérola de ceratina. (C) Canibalismo celular (D). Células arranjadas em sincício. (Coloração de Papanicolau, aumento 1.000x). (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

Algumas das principais características morfológicas analisadas por meio de citologia esfoliativa para o diagnóstico de câncer bucal estão compiladas na Tabela 1 a seguir:

	Células saudáveis	Células de câncer bucal
Tamanho e formato celular	O tamanho das células é homogêneo, predominando células superficiais, com núcleo pequeno e centralizado e citoplasma abundante. As células tem formato poligonal e simétrico.	Tamanho e formato das células heterogêneos, pode haver presença de células da camada basal, com citoplasma mais escasso, contornos celulares irregulares.
Tamanho e formato do núcleo	Células superficiais com núcleo pequeno, geralmente arredondado ou oval, simétrico, com limites regulares e bem definidos.	Variação significativa em tamanho (anisonucleose) e formato com contornos irregulares.
Aspecto da cromatina nuclear	Cromatina distribuída de maneira homogênea e com aspecto finamente granular.	Há um aumento da presença de cromatina a qual se encontra distribuída de maneira irregular e em grânulos grosseiros.
Hipercromasia nuclear	Raramente existe, mas, quando presente, comumente significa presença de reação fisiológica reparativa (inflamação).	Comumente encontrada devido ao aumento da presença de cromatina em virtude do constante e descontrolado processo de divisão celular.
Núcleolo	Nem sempre evidente. Quando presente, são pequenos, com formato regular e variam de apenas um a dois ou três, no máximo.	Múltiplos e bem evidentes por estarem, comumente, aumentados em tamanho e com formatos irregulares.
Mitoses	Ocasionalmente vistas. Geralmente presentes somente em células da camada basal do epitélio e apresentando material genético homogeneamente distribuído.	Presença de mitoses anormais, com material genético distribuído de maneira heterogênea e presente nas células de qualquer extrato epitelial.

Tabela 1. Características morfológicas citológicas de células epiteliais saudáveis e neoplásicas em mucosa bucal. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.3.1.1 SISTEMA DE GRADUAÇÃO DO CÂNCER BUCAL DIAGNOSTICADO POR MEIO DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA NO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA BUCAL DA UFSC.

A citologia esfoliativa é uma técnica diagnóstica extensivamente utilizada na área médica em diversas especialidades, mas ainda acaba sendo mais rotineira na especialidade de ginecologia, onde foi pioneiramente desenvolvida (PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941). Apesar de existirem outros sistemas de graduação, o mais utilizado, atualmente, nesta área, em especial, chama-se Bethesda e segue critérios bem definidos tanto para graduação (Anexo C) quanto para análise de qualidade da amostra (Anexo A) (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

O uso da citologia esfoliativa na Odontologia é mais recente do que na Medicina (SILVA et al., 2014). Na Universidade Federal de Santa Catarina, por exemplo, a citologia só foi implementada como rotina de diagnóstico de lesões bucais no ano de 2015, por meio da realização de um projeto de extensão coordenado pelo Professor Doutor Felipe Perozzo Daltoé, e que contou com a colaboração de diversos profissionais, assim como com a participação da autora deste trabalho, graduanda e bolsista do projeto naquele período.

Não obstante, os sistemas de graduação e análise do material citológico na Odontologia se espelharam nos da área médica. Atualmente, existem diferentes sistemas de graduação citológica dentro da própria Odontologia, a exemplo do próprio Bethesda (SEKINE, 2017) ou ainda o apresentado por autores como Afrogheh et al. (2012) e Mehrotra (2013) (Anexo B). Entretanto, o Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina opta pelo sistema clássico, desenvolvido por Papanicolaou et al. em 1941 e adaptado por Folsom et al. em 1972, conforme pode ser observado na Tabela 2, a seguir:

Classe I	Ausência de células anormais na amostra
Classe II	Células com alterações sugestivas de inflamação ou infecção
Classe III	Presença de células anormais sugestivas de malignidade
Classe IV	Células com características fortemente sugestivas de malignidade
Classe V	Exame citológico conclusivo de malignidade

Tabela 2. Sistema de classificação de grau de displasia utilizada no LPB-UFSC (baseado em FOLSOM et al., 1972; PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941)

Com base nesta classificação, as amostras citológicas categorizadas como Classe I normalmente apresentam células saudáveis e mais maduras (bem diferenciadas) (Figura 11), provenientes das camadas superiores do epitélio. Estas possuem núcleos pequenos e citoplasma eosinofílico abundante (MEHROTRA, 2013).

Não é atípico, no entanto, encontrar células intermediárias em esfregaços de epitélio oral saudável ou levemente atrófico. Estas células são caracterizadas por núcleos mais pálidos e pela presença de cromatina descondensada, pode demonstrar pequenos nucléolos. Seu citoplasma pode conter abundante quantidade de glicogênio, sendo bem evidenciados em cor-de-rosa quando corados com coloração de Papanicolaou. As células basais ou parabasais, por sua vez, também encontradas em epitélio oral atrófico, possuem citoplasma e núcleos basofílicos (pouco proteico) e mais escassos que das células intermediárias – o que resulta em uma relação núcleo/citoplasma maior. Sobre sua membrana nuclear, esta é lisa e regular e a cromatina é pálida e delicada (MEHROTRA, 2013).

Um aspecto extremamente importante quando se trata de um diagnóstico citológico é correlacionar os achados morfológicos celulares com as características clínicas fornecidas pelo profissional que coletou a amostra. Em mucosa mastigatória (palato duro e gengiva inserida), por exemplo, podem ser observadas células e placas orto e paraceratóticas. Estas podem ser consideradas normais quando provenientes dessas localizações, mas podem ser consideradas indícios de doença quando provenientes de outras. Em lesões clinicamente diagnosticadas como

leucoplasias, por exemplo, a hiperkeratose encontrada é resultado do estado de alteração patológica do tecido (o que por si só faz com que a amostra já seja classe II e não mais apenas I de Papanicolau). Quando, somado a essas características, ainda podem-se observar alterações morfológicas celulares com indícios de malignidade, a amostra deve passar de uma categoria II de Papanicolau para III, IV ou V de acordo com a gravidade dos achados. (MEHROTRA, 2013).

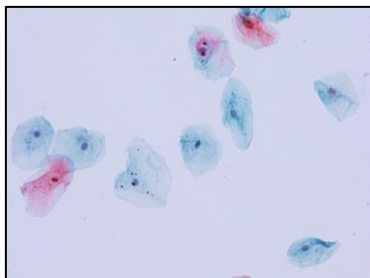


Figura 11. Lâmina citológica de células epiteliais saudáveis de mucosa bucal mostrando o predomínio de células superficiais com citoplasma abundante e núcleo com tamanho e formato regulares típicos de uma Classe I de Papanicolau.

3.4 CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS DE DOENÇAS OU CONDIÇÕES NÃO NEOPLÁSICAS DA CAVIDADE BUCAL

As células do epitélio da mucosa bucal podem apresentar diversas alterações morfológicas em virtude de série de condições não neoplásicas como, por exemplo, na presença de doenças infecciosas, inflamatórias, reparativas, mudanças pós-quimio/radioterapia, dentre outras. É imprescindível a correlação desses achados citológicos com a descrição clínica da amostra para descartar hipóteses de doenças malignas e pré-malignas e realizar, com segurança, o diagnóstico correto de cada amostra (MEHROTRA, 2013). Pela necessidade de se conhecer as peculiaridades de cada uma dessas condições, elas serão discutidas em maior profundidade, separadamente, a seguir.

3.4.1 ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS INESPECÍFICAS

A cavidade oral é um local onde, comumente, ocorrem várias condições ulcerativas benignas. Estas incluem úlceras aftosas, doenças vesículo-bolhosas e úlceras traumáticas, muitas dessas caracterizadas por episódios de ulceração e regeneração. A maioria das amostras citológicas com características de inflamação inespecífica são definidas por células epiteliais dispostas em placas, frequentemente associadas a células inflamatórias. As células epiteliais demonstram núcleos ampliados e pálidos, com contornos nucleares definidos, nucléolos proeminentes e cromatina com aspecto de desfocada. Células com núcleos hipercromáticos normalmente não são vistas, no entanto, pequenos halos perinucleares e células bi ou multinucleadas podem estar presentes (Figura 12) (MEHROTRA, 2013).

Nesses casos, o citoplasma celular frequentemente mostra também alterações degenerativas como vacuolização, extensões citoplasmáticas e limites celulares mal definidos. O citoplasma pode ficar ainda opaco e a coloração com Papanicolau pode ser bifásica (cianófila/eosinofílica) (RAMSY, 1990).

Hiperceratose benigna, paraceratose e granulosidade citoplasmática também podem estar presentes. A anisonucleose, a necrose celular individual e um significativo aglomerado nuclear devem estar ausentes (MEHROTRA, 2013).

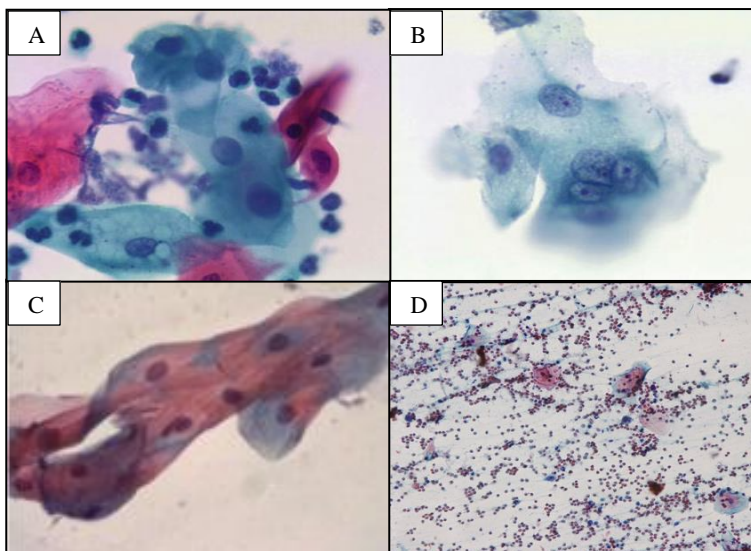


Figura 12. Alterações inflamatórias inespecíficas em células epiteliais da mucosa bucal: (A) Vacuolização citoplasmática, cromatina “pulverulenta” e aumento da relação núcleo-citoplasma. (B) Multinucleação reativa e nucléolos evidentes. (C) Coloração citoplasmática bifásica. (D) Fundo com infiltrado inflamatório, sangue e bactérias (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013)

No caso de lesões epiteliais inflamatórias, o fundo do esfregaço pode conter diversos tipos de células inflamatórias, como neutrófilos, macrófagos e linfócitos, além de glóbulos vermelhos e até mesmo fragmentos de exsudato fibrinopurulento ou tecido de granulação. Células necróticas são menos comuns. Podem estar ainda presentes bactérias, incluindo agregados de *Actinomyces sp.*, muitas vezes misturados com cocos (especialmente associados às gengivites) (MEHROTRA, 2013).

3.4.2 DOENÇAS CAUSADAS POR BACTÉRIAS:

As bactérias podem aparecer na lâmina citológica em diversos formatos (cocos, estreptococos, bacilos, etc), porém são facilmente diferenciáveis das células epiteliais pelo tamanho (extremamente diminuto) e morfologia (Figura 13). As bactérias mais comumente detectadas por citologia esfoliativa são *Actinomyces israelii* e *Actinomyces viscosus* associadas à *Streptococci* e *Staphylococci*,

Mycobacterium tuberculosis, *Mycobacterium leprae*, *Mycoplasma orale* e *Mycoplasma salivarium* (MEHROTRA, 2013).

Outras bactérias que também são normalmente encontradas na cavidade oral, e que, em quadros de imunodepressão, podem causar doença são: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Propionibacterium acnes*, *Peptostreptococcus prevotii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Peptostreptococcus micros*, *Vellonella*, *Streptococcus intermedius*, e espécies de *Legionella* e *Simonsiella*. A maioria dessas bactérias são detectáveis pelo exame citológico, porém não são cultiváveis. Se necessário, o diagnóstico final do tipo de bactéria é feito por sorologia ou outras técnicas auxiliares (MEHROTRA, 2013).

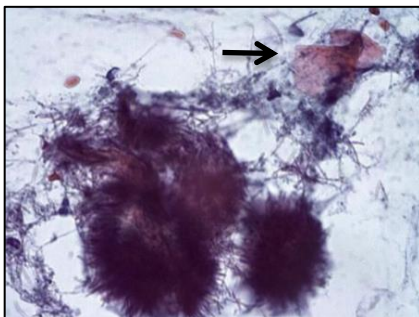


Figura 13. Exemplos de bactérias coletadas por meio de citologia esfoliativa. Colônia de *Actinomyces* próxima a uma célula epitelial (seta). (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.3 DOENÇAS FÚNGICAS:

Os fungos mais comumente encontrados na cavidade oral e que são passíveis de detecção por citologia esfoliativa são *Candida albicans*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcosis*, *Aspergillus fumigatus* e *Mucormycosis* (BIBBO, M.; WILBUR, 2008).

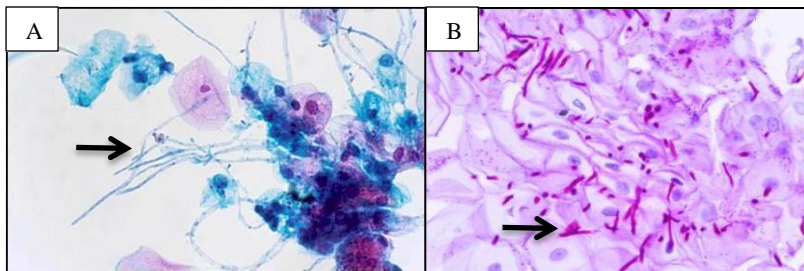


Figura 14. Hifas de *Candida albicans* detectadas em esfregaços de citologia esfoliativa bucal. Hifas coradas discretamente com coloração de Papanicolau (A); Hifas coradas fortemente em rosa em coloração de PAS (B) (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.4 DOENÇAS VIRAIS:

Os vírus não são vistos em microscópio óptico de luz, mas causam mudanças morfológicas nas células passíveis de serem detectadas em amostras coletadas por meio de esfregaço citológico. Os vírus que mais comumente causam essas alterações na mucosa bucal são o *Herpes simplex vírus*, o *Cytomegalovirus*, a *Varicella Zoster vírus*, o *Molluscum contagiosum virus* (MCV), o *Epstein-Barr vírus*, o *Human herpes virus-8*, o *Human immunodeficiency vírus*, o *Human polyomavirus* e o *Human Papilloma Virus* (MEHROTRA, 2013).

As células infectadas frequentemente mostram características como eosinofilia citoplasmática com presença de grânulos e vacúolos degenerativos, cromatina nuclear com aspecto de vidro quebrado, formação de vacúolos ou invaginações das membranas nucleares (aspecto balonizante) e muitas vezes podem ainda acontecer a formação de células gigantes. (Figura 15). Testes de cultura viral são mais confiáveis nestes casos onde se busca saber especificamente o agente causador (MEHROTRA, 2013).

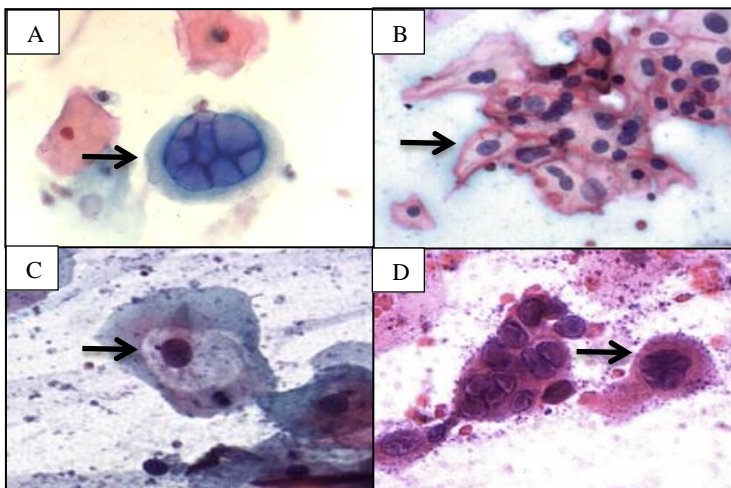


Figura 15. Célula epitelial com características morfológicas de infecção viral. (A) Células com infectada pelo vírus Herpes simples e com núcleo balonizante; (B) presença de vacúolos intra-citoplasmáticos; (C) Halo perinuclear (D) presença de células gigantes e células com inclusões intranucleares.

(Fonte: <https://image.slidesharecdn.com/11-inflamacionenvce-110710062000-phpapp01/95/11-inflamacion-en-vce-11-728.jpg?cb=1310278929> e adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.5 DOENÇAS PARASITÁRIAS:

Algumas infecções parasitárias são também passíveis de identificação pela citologia esfoliativa. As duas parasitoses mais comuns são causadas por *Leishmania braziliensis* e *Entamoeba gingivalis*. O parasita da *E. gingivalis* (Figura 16) é extremamente raro, encontrado normalmente apenas após terapia ionizante e está fortemente relacionado à presença de doença periodontal (MEHROTRA, 2013).

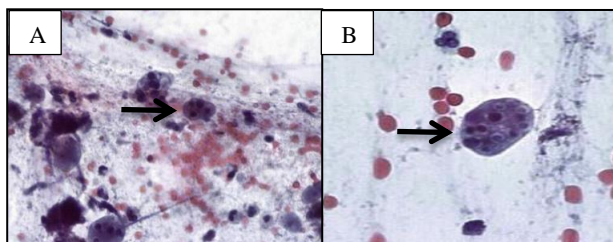


Figura 16. Infecção por *Entamoeba gingivalis*. (A) Entamoeba em meio a um fundo hemorrágico, células inflamatórias e muco; (B) Entamoeba em maior detalhe, próxima à hemácias e células inflamatórias) (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.6 DOENÇAS AUTOIMUNES:

Diversas doenças autoimunes podem ter manifestações bucais. O diagnóstico da maioria delas é baseado na associação das características clínicas, histopatológicas e de exames complementares os quais, normalmente não envolvem o uso da citologia esfoliativa (NEVILLE et al., 2009). Isso não quer dizer, no entanto, que a citologia esfoliativa não possa ser realizada nos casos onde exames necessários para o diagnóstico, como uma biópsia, por exemplo, estejam contra indicados (ex: pacientes sem condições sistêmicas de serem submetidos ao procedimento cirúrgico). Outro exemplo de indicação de citologia esfoliativa em pacientes com doenças autoimunes seria para o acompanhamento de lesões com risco potencial de malignização, como o líquen plano erosivo, por exemplo (MEHROTRA, 2013).

A maioria das doenças autoimunes como Pênfigo Vulgar e Líquen Plano, por exemplo, estão geralmente associadas à hereditariedade e fatores predisponentes como o estresse (MEHROTRA, 2013).

A maioria das características citológicas encontradas nesses casos não é patognomônica de uma ou outra doença, mas podem ser identificadas de forma geral. Uma amostra diagnosticada como Pênfigo Vulgar, por exemplo, frequentemente apresentará uma quantidade moderada e relativamente uniforme de células basais e parabasais acantolíticas, com acentuação da membrana nuclear e núcleos claros com nucléolos únicos ou múltiplos e proeminentes (Figura 17). O citoplasma mostra degeneração e extensões citoplasmáticas para fora da célula. Vacúolos intracitoplasmáticos também podem estar presentes. O citoplasma é frequentemente basófilo, mas pode variar em relação ao grau de degeneração. Pode, também, ocorrer uma multinucleação (MEHROTRA, 2013).

De maneira similar, outras doenças autoimunes como o líquen plano, por exemplo, apresentam características citológicas comuns a outras condições inflamatórias. Dentre elas, pode-se citar a presença de um fundo inflamatório marcante, predominantemente linfocitário, e fragmentos de tecido mostrando linfócitos intraepiteliais e estruturas homogêneas redondas ocasionais que se parecem com os corpos colóides vistos em cortes histopatológicos. Conforme mencionado anteriormente, a utilidade primária da citologia nesses casos seria como

um complemento para a avaliação clínica periódica das lesões para diagnóstico de displasias ou neoplasias associadas à elas (MEHROTRA, 2013).

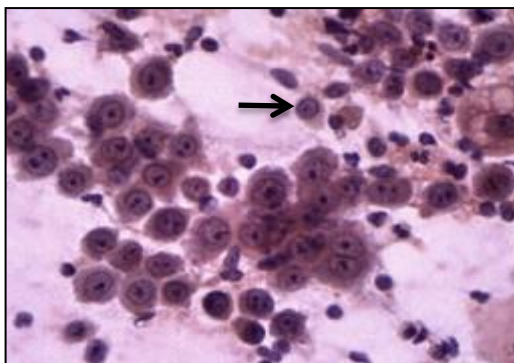


Figura 17. Citologia esfoliativa de um Pênfigo Vulgar mostrando células acantolíticas com degeneração citoplásmica e nucléolos proeminentes. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.7 PACIENTES SUBMETIDOS À RADIOTERAPIA

A radioterapia tem um efeito cumulativo sobre as células sadias e causa alterações morfológicas nas mesmas, semelhante às encontradas nas condições inflamatórias inespecíficas. Dentre elas, pode-se citar o alargamento tanto do citoplasma quanto do núcleo, levando ao desenvolvimento de células com tamanho aumentado, chamadas macrócitos (Figura 18). A relação núcleo/citoplasma também pode estar alterada e a presença de células pleomórficas e multinucleadas não é rara (MEHROTRA, 2013).

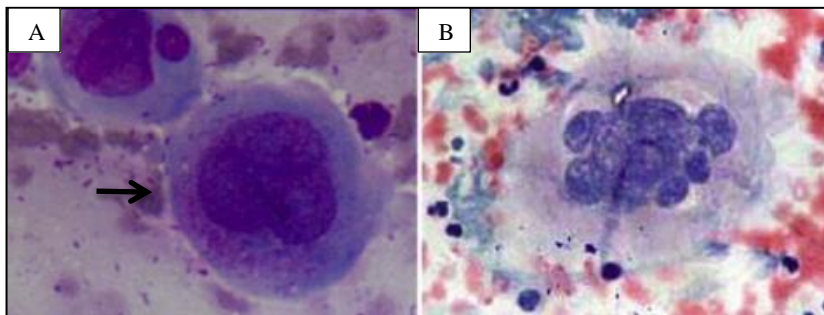


Figura 18. Células epiteliais da mucosa bucal em área irradiada. (A) Pleomorfismo celular e nuclear com aumento da relação núcleo citoplasma. (B) Presença de célula epitelial multinucleada. Coloração Panótico, aumento 1.000x (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.8 HIPERCERATOSES

A paraceratina se apresenta numa lâmina citológica como estrutura semelhante às células, mas sem a presença de um núcleo e coradas em rosa/avermelhado a alaranjado quando usado coloração de Papanicolau (Figura 19). Esta basofilia é caracterizada pela alta quantidade de proteína que compõem essas estruturas. A ortoceratina apresenta coloração similar à paraceratina, mas tem o diferencial de que ainda é possível observar os núcleos celulares no interior dessas estruturas, os quais são comumente ovais/alongados (MOINFAR, 2012).

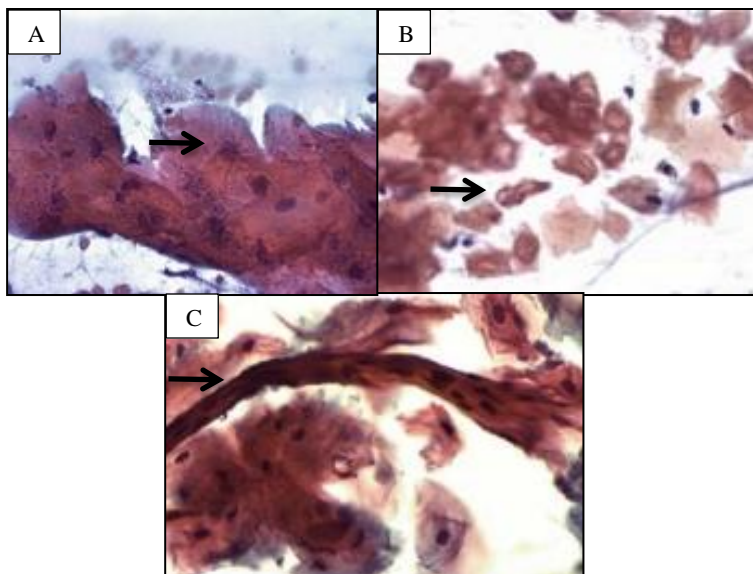


Figura 19. Citologia esfoliativa de mucosa bucal para exemplificar hiperqueratose. (A) Células epiteliais da camada córnea, apresentando grande quantidade de grânulos de ceratina no seu citoplasma. (B) Estruturas anucleadas semelhantes às células compatíveis com paraceratina. (C) Paraceratose, pode ser observada a presença dos núcleos ovais no interior da ceratina. Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.9 LÍNGUA PILOSA

A língua pilosa é uma condição benigna desenvolvida pela associação de uma pobre higiene bucal e tabagismo, dentre outros fatores, resultando em uma produção defeituosa de papilas filiformes, de modo que elas podem aumentar de comprimento entre 3 mm a até 15 mm (REAMY et al., 2010). As amostras obtidas por citologia esfoliativa da área de dorso de língua de pacientes com língua pilosa mostrarão agregados compactos e alongados de ceratinócitos anucleados, fortemente incrustados por bactérias e, ocasionalmente, fungos. Esses agregados correspondem às papilas hiperplásicas, que são características desta condição e, aparentemente parecidas com os cabelos (Figura 20) (PATIL et al., 2009).

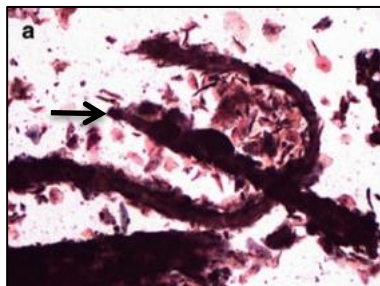


Figura 20. Citologia esfoliativa de língua pilosa mostrando estruturas enegrecidas-amarronzadas correspondentes à fragmentos das papilas filiformes. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.10 GRÂNULOS DE FORDYCE

Os grânulos de Fordyce são glândulas sebáceas ectópicas benignas presentes em até 80% da população e consideradas, portanto, apenas uma variante de normalidade (NEVILLE et al., 2009). Eles apresentam-se, geralmente, na mucosa bucal ou na borda do lábio como nódulos branco-amarelados. O diagnóstico dessas estruturas é primariamente clínico e, pelo fato de estarem localizadas no espaço subepitelial e não terem conexão direta com a superfície epitelial, são aparentes somente em amostras citológicas coletadas com força muito vigorosa ou em locais com solução de continuidade (ex: trauma ou neoplasia local). As amostras citopatológicas revelarão agregados dispersos de células com citoplasma contendo pequenos vacúolos que correspondem às gotículas lipídicas, semelhante aos achados anatomopatológicos (Figura 21) (MEHROTRA, 2013).

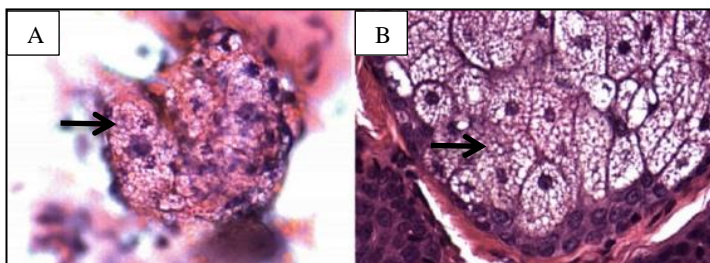


Figura 21. Grânulos de Fordyce. (A) Amostra coletada por meio de citologia esfoliativa mostrando células com grande quantidade de vacúolos lipídicos o que as torna compatíveis com grânulos de Fordyce (B) Corte histológico de grânulos de Fordyce apresentando lóbulos sebáceos semelhantes aos encontrados citologicamente. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013)

3.4.11 TATUAGEM POR AMÁLGAMA

A tatuagem de amálgama é a pigmentação oral mais comum, apresentando-se, clinicamente, como uma mácula cinza-enechrecida na mucosa oral. Ela geralmente está localizada em mucosas gengivas ou bucais, palato e língua perto de restaurações de amálgama (ou de regiões que já tiveram restaurações de amálgama). A tatuagem é decorrente da implantação inadvertida de amálgama durante a restauração ou contato crônico com a mesma (PAGE et al., 1977). Comumente, o amálgama implantado fica retido na lâmina própria e, portanto, não é um achado citológico comum. A citologia esfoliativa não é um exame diagnóstico de primeira escolha para qualquer tipo de lesão pigmentada, mas achados como esses, de presença de fragmentos de amálgama podem ocorrer uma vez que outras lesões que levem a indicação de citologia esfoliativa possam ocorrer concomitantemente na região. Mesmo assim, pelo fato desses fragmentos de amálgama estarem localizados mais na profundidade do tecido, normalmente só são coletados quando se faz a coleta excessivamente vigorosa ou quando há solução de continuidade na região. Os fragmentos de amálgama raramente são evidentes, mas, podem aparecer como um material amorfo e preto-enechrecido, com ligeira translucidez (Figura 22) (MEHROTRA, 2013).

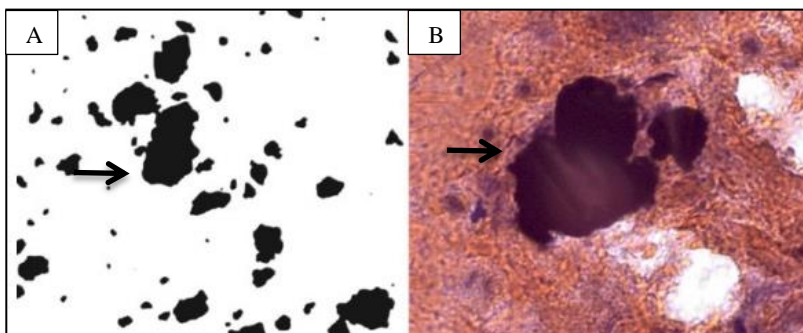


Figura 22. Achados citológicos de uma tatuagem por amálgama. (A) Amostra demonstrando material amorfo, preto, compatível com amálgama. (B) Fragmento de amálgama levemente transluscente entremeado a um marcante fundo de sangue indicando sinal de trauma (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.4.12 MÁCULA MELANOCÍTICA

As máculas melanocíticas bucais são áreas de pigmentação geralmente presentes na gengiva ou nos lábios de pacientes a partir da sua quinta década de vida (NEVILLE et al., 2009). As lesões geralmente são inferiores a 1 cm e podem ser múltiplas. O pigmento de melanina na mácula melanocítica reside não apenas nos melanócitos, mas também nas células epiteliais parabasais e basais (BUCHNER; MERRELL; CARPENTER, 2004) de modo que uma amostra obtida por meio de citologia esfoliativa pode conter células com o pigmento melanina no seu citoplasma. É razoável afirmar que a citologia esfoliativa não deve ser indicada como procedimento diagnóstico de primeira escolha para esse tipo de alteração, haja visto que um dos seus diagnósticos diferenciais mais importantes é uma doença maligna extremamente agressiva, o melanoma. Porém, é importante saber que se realizada a citologia em uma área contendo uma mácula melanocítica, algumas das suas características podem ser reconhecidas também através desse exame. A recomendação diagnóstica desse tipo de lesão consiste, portanto, em se realizar biópsia e análise anatomopatológica assim como de todas as lesões pigmentadas bucais (BUCHNER; MERRELL; CARPENTER, 2004).



Figura 23. Células basais e parabasais coletadas por meio de citologia esfoliativa de uma mácula melanocítica. As células mostram pigmento marrom granular em seus citoplasmas. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.5 PRINCIPAIS ACHADOS QUE PODEM DIFICULTAR O DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO ORAL

Muitos dos artefatos e situações citadas a seguir podem acabar dificultando a visualização própria das células epiteliais, e por isso, é de suma importância saber como identifica-las.

3.5.1 HEMORRAGIA

As hemácias aparecem como pequeninas células, anucleadas, de cor avermelhada e que brilham quando na mudança de foco no microscópio óptico de luz (NEVILLE et al., 2009). São coletadas principalmente em lesões ulceradas e, quando em demasia, podem se sobrepor às células epiteliais da amostra e dificultar o diagnóstico citológico (Figura 24) (MEHROTRA, 2013).

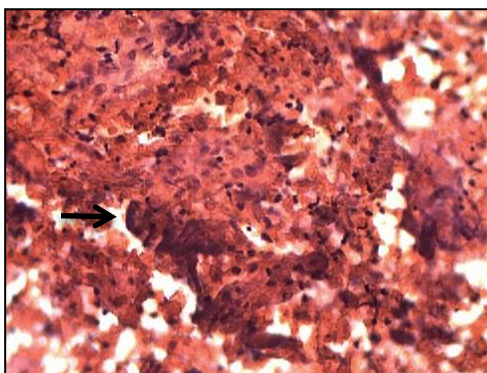


Figura 24. Amostra citológica obtida do centro de uma lesão ulcerada. Observam-se células inflamatórias, hemácias e exsudato fibrinopurulento mascarando a presença de células superficiais (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013)

3.5.2 SOBREPOSIÇÃO E DISTORÇÃO DA MORFOLOGIA CELULAR

Ambos achados são comumente provenientes da realização inadequada da técnica de esfregaço sobre a lâmina de vidro. A má distribuição das células pode resultar em uma sobreposição celular excessiva ou ainda dobramento ou distensão das células. Lâminas

citológicas com sobreposição celular em demasia podem tornar a amostra inviável para análise (Figura 25) (MEHROTRA, 2013).

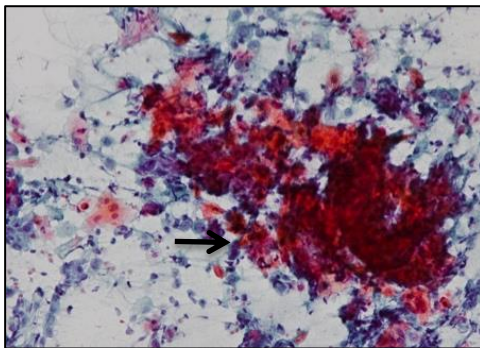


Figura 25. Amostras de citologia esfoliativa imprópria para análise em virtude da pobre distribuição celular, tornando impossível a interpretação individual das células (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.5.3 DEBRIS

Os debris geralmente apresentam-se como um fundo de material mucoso ou restos de células lisadas durante a coleta ou manipulação da amostra na lâmina, por exemplo. O obscurecimento de material celular por elementos não celulares, como detritos, alimentos, muco e/ou bactérias que não foram removidas antes da obtenção do esfregaço também podem levar a amostra a ser considerada imprópria para análise (Figura 26). Uma forma de minimizar isso é a limpeza prévia da região com gaze (MEHROTRA, 2013).

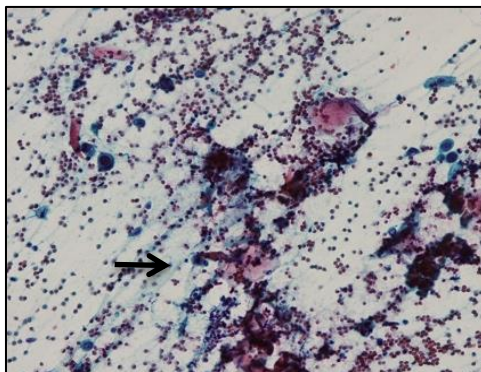


Figura 26. Quantidade excessiva de muco e debris celulares sobre células epiteliais da mucosa bucal coletadas por meio de citologia esfoliativa. O obscurecimento das células dificulta a análise citológica da amostra.

3.5.4 COLORAÇÃO IMPRÓPRIA

A coloração imprópria do esfregaço pode ocorrer devido à falha da coloração de Papanicolaou como resultado de um pH impróprio da água, do esgotamento dos corantes, dos reagentes expirados, exposição inadvertida da lâmina à formalina, sobreaquecimento da lâmina durante a secagem, dentre muitos outros. Nestes casos, informações importantes de diagnóstico citopatológico e detalhes das morfologias celulares e nucleares podem ser perdidas (Figura 27) (MEHROTRA, 2013).

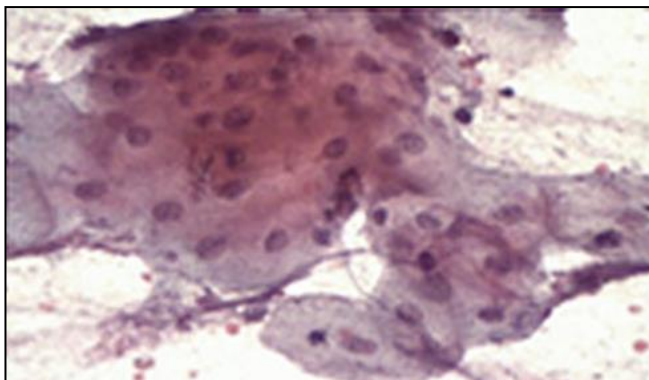


Figura 27. Falha na coloração de Papanicolaou de células epiteliais da mucosa bucal. Neste caso, a coloração acinzentada atípica de todas as células da amostra foi devido a exposição accidental da lâmina a uma solução de formalina. (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.6 A COLETA E PROCESSAMENTO DO MATERIAL DE CITOLOGIA ESFOLIATIVA

A coleta do material para CE pode ser feita de diversas maneiras, dentre elas, com o uso de *cytobrush* (mini-escova de cerdas curtas) (figura 28), espátula de madeira, Oral CDx®, curetas citológicas e bochecho (Figura 29) (MULKI; SHETTY; PAI, 2015; REBOIRAS-LÓPEZ et al.,2012). Esses materiais são de fácil utilização técnica e de baixo custo, o que pode representar uma excelente alternativa para locais que dispõem de pouco investimento técnico ou armamentário (MULKI; SHETTY; PAI, 2015).



Figura 28. Coleta do material citológico com auxílio de um Cytobrush (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).



Figura 29. Instrumentos que podem ser utilizados para obter amostra citológica. Da esquerda para a direita: espátula de madeira, espátula metálica, *cytobrush* e curetas citológicas (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

Dentre as ferramentas disponíveis no mercado para CE, a mais utilizada para coleta de células esfoliadas de mucosa oral é o *cytobrush*. Este pode ter o formato retilíneo, como na Figura 28 ou ainda com uma escova em formato circular (de anel – tipo Oral CDx®). Ambas as

escovas tem capacidade de coleta melhores que os demais métodos de coletas disponíveis (curetas, espátulas de madeira, etc) e o uso de um tipo de escova ou da outra se justifica muito mais pelas especificidades de alcance que uma tem em detrimento da outra em determinados sítios anatômicos da cavidade bucal (REBOIRAS-LÓPEZ et al., 2012).

De maneira geral, para coleta do material citológico, as escovas/espátulas/curetas devem ser friccionadas vigorosamente no local da lesão e então encaminhadas para diferentes métodos de processamento (CAMPAGNOLI et al., 2011), os quais que serão discutidos a seguir:

1) Método convencional: esse método consiste na transferência direta das células aderidas no *cytobrush*/espátula/cureta para uma lâmina de vidro por meio de um esfregão. As células dispostas sobre a lâmina de vidro são então imediatamente fixadas em álcool 95° e posteriormente coradas com coloração Papanicolaou (LUCENA et al., 2010).

2) Método em meio-líquido: este método baseia-se em acondicionar as células coletadas com o *cytobrush*/espátula/cureta em uma solução comercial preservadora à base de metanol, para futura distribuição automatizada com a ajuda de uma citocentrífuga sobre a lâmina de vidro. Segundo Lucena e colaboradores (2010), no processamento do meio líquido as células sofrem um processo de homogeneização e a solução à base de metanol ajuda a remover muco, debris e células não epiteliais, o que auxilia a diminuir a possibilidade de desenvolvimento de alguns artefatos, como a sobreposição de células epiteliais e mascaramento das mesmas por hemácias ou células inflamatórias, por exemplo. Após serem distribuídas sobre a lâmina de vidro, as células são coradas da mesma forma que o método convencional.

3) Método manual em meio-líquido: para esta técnica o material coletado é acondicionado no mesmo meio-líquido do método anterior, porém é apenas centrifugado em centrífuga convencional, e o *pellet* re-suspenso e pipetado (3 a 6 gotas) sobre uma lâmina de vidro. Após completamente secas, as células são coradas de maneira habitual, conforme as outras técnicas (SHUKLA et al., 2015).

3.7 TIPOS DE COLORAÇÕES MAIS UTILIZADAS EM CITOLOGIA ESFOLIATIVA

3.7.1 COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU (PAP):

A coloração de Papanicolaou proporciona a visualização clara da morfologia nuclear e citoplasmática através da transparência celular (Figura 30). Ela permite a avaliação das principais características celulares, incluindo alterações da cromatina nuclear; contornos das membranas nucleares e celulares; estruturas citoplasmáticas como grânulos e vacúolos; graus de diferenciação celular; presença de degeneração ou necrose, mucina, glicogênio, ceratina, dentre outros. (CHANTZANTONIOU et al., 2017).

Esta coloração reúne três tipos diferentes de soluções corantes. A primeira é a Hematoxilina, uma solução básica de cor azul-púrpura quando oxidada. A basicidade desta solução atrai moléculas ácidas como os ácidos nucleicos presentes no núcleo celular, e os cora em azul-violeta. As células epiteliais da camada basal e parabasal também possuem maior afinidade por este corante (PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941).

A segunda solução corante utilizada no protocolo de coloração de Papanicolaou é o Orange 6 (OG-6). Este possui características ácidas, e tem, portanto, afinidade por substâncias básicas, como a ceratina. Sua coloração possui cor alaranjada (CHANTZANTONIOU et al., 2017).

Por último, a solução Eosina Azure (EA), também é acídica, mas possui cor vermelha e é utilizada principalmente para realçar detalhes do citoplasma de células escamosas superficiais (CHANTZANTONIOU et al., 2017).

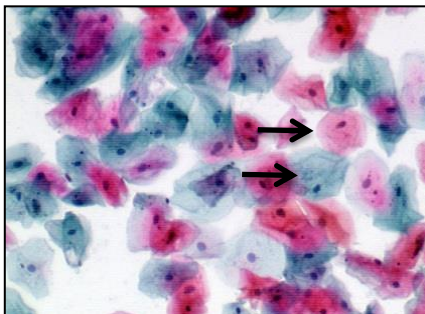


Figura 30. Citologia esfoliativa de células epiteliais da mucosa bucal coradas com Papanicolaou. Células epiteliais superficiais coradas em alaranjado-róseo e células intermediárias coradas em azul-esverdeado (aumento de 40x) (arquivo LPB-UFSC)

3.7.2 ÁCIDO PERIÓDICO-SCHIFF (PAS):

Primeira vez descrita por McManus em 1948, a coloração de PAS é uma solução utilizada em citologia para detectar polissacarídeos, tais como glicogênio, glicoproteínas, glicolípidos e mucinas. A coloração de PAS pode ser usada para auxiliar no diagnóstico de várias condições patológicas, como a quantificação de reserva de glicogênio muscular no diagnóstico de Doença de Pompe (SCHAART et al., 2004), e na identificação de microesporos fúngicos, por exemplo (RODRÍGUEZ-TOVAR et al., 2017).

Na detecção de fungos, em especial, o PAS tem se mostrado superior à Coloração de Papanicolaou, inclusive. Uma razão para isso é que o PAS tem afinidade pelos polissacarídeos presentes na membrana celular de fungos corando-os de magenta (Figura 31) (MEHROTRA, 2013; MCMANUS, 1948). Uma peculiaridade dessa coloração, no entanto, é que ela só tem afinidade com microorganismos vivos, pois ela cora apenas a membrana celular e não a cápsula destes (MEHROTRA, 2013).

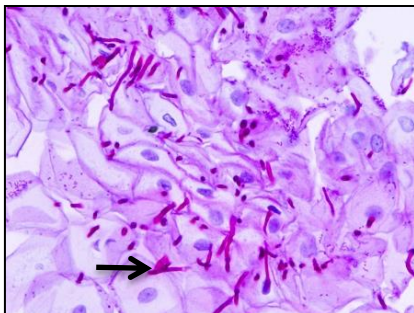


Figura 31. Células de *Candida albicans* corada em cor-de-rosa com PAS (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.7.3 GROCOTT-GOMORI

Esta coloração é amplamente utilizada para triar organismos fúngicos específicos. Diferentemente do PAS, ela detecta fungos vivos ou mortos. Atualmente, é principalmente utilizada para identificar o fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, causador da Paracoccidioidomicose. Na lâmina, o fungo passa a ficar corado de marrom escuro/preto (Figura 32) (RODRÍGUEZ-TOVAR et al., 2017).

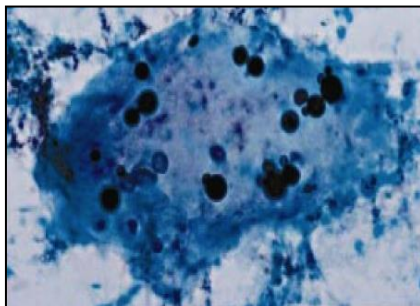


Figura 32. Célula multinucleada coletada por meio de citologia esfoliativa, exibindo, em seu interior, fungos de *Paracoccidioides brasiliensis* evidenciados em preto pela coloração de Grocott-Gomori (Fonte: <http://www.scielo.br/img/revistas/rsbmt/v36n3/16349f1.jpg>).

3.7.4 PANÓTICO (ROMANOWSKY STAIN):

A coloração de Panótico utiliza três soluções para a coloração: o xanteno, a tiazina e o triarilmetano (REAGAN, 1984). Lâminas de coloração muito avermelhadas, indicam acidez excessiva e lâminas muito azuladas, indicam alcalinidade excessiva (REAGAN, 1984). Alguns autores acreditam que essa solução tem como vantagens permitir tanto uma boa visualização da morfologia celular quanto dos elementos de fundo do esfregaço e dos componentes da matriz intercelular (Figura 33) (KRAFTS; PAMBUCCIAN, 2011). Além disso, esse mesmos autores acreditam que pelo fato das lâminas serem fixadas pelo secamento ao ar livre e não pelo álcool, como no PAP, o tamanho das células fica melhor preservado. Isso faz com que a coloração de Panótico seja a preferida para corar lâminas que serão destinadas a análises morfométricas (KRAFTS; PAMBUCCIAN, 2011).

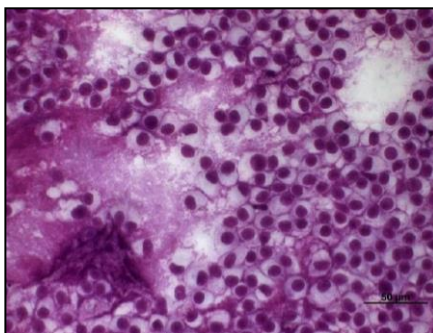


Figura 33. Células plasmocitoides coletadas por meio de punção aspirativa por agulha fina e coradas com Panotico, sugestivas de adenoma pleomorfo (Fonte: Adaptado de Mehrotra, 2013).

3.8 TÉCNICAS COMPLEMENTARES À ANÁLISE MORFOLÓGICA PARA DIAGNÓSTICO EM CITOLOGIA ESFOLIATIVA

Adicionalmente à análise morfológica das células coletadas por meio de CE, pesquisadores de todo o mundo estão constantemente procurando maneiras de aumentar a acurácia diagnóstica da técnica. Nesse sentido, somam-se esforços por meio de análises moleculares adicionais do material genético dessas células, como a análise

quantitativa de DNA (REMMERBACH et al., 2003); análise citomorfométrica celular (LOSS et al., 2011); contagem de micronúcleos (SHASHIKALA et al., 2015); contagem de AgNORs (SEGURA et al., 2015); identificação imunocitoquímica de marcadores tumorais; identificação de promotores de hipermetilação (alterações epigenéticas) e de instabilidade genômica; análise de perda de heterozigocidade; análise de instabilidade de microsátélites; polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição, dentre outros (MEHROTRA, 2013).

4 DISCUSSÃO

A cavidade oral é conhecida por ser um pequeno espelho que reflete a saúde de um indivíduo e seus hábitos nocivos ao corpo (UDAYASHANKAR et al., 2016). Desta maneira, os dentistas tem um papel de grande responsabilidade pois, muitas vezes, são os primeiros a detectarem alterações nas mucosas bucais e, por conseguinte, na saúde desse paciente (KÄMMERER et al., 2013).

Durante a investigação diagnóstica, no entanto, pode ser difícil apenas por exame visual a discriminação de lesões benignas e potencialmente malignas, fazendo com que o profissional da saúde tenha que alçar mão de técnicas complementares de diagnóstico (KÄMMERER et al., 2013).

Nesse sentido, a citologia esfoliativa (CE) apresenta-se como uma técnica diagnóstica complementar de uso relativamente recente na odontologia, sendo as suas primeiras aplicações datadas da década de 70 (FOLSOM et al., 1972). Na área médica, a prática desta técnica tornou-se popular e mais utilizada há um pouco mais de tempo, com principal aplicabilidade a análise de epitélios cérvico-uterinos (PAPANICOLAOU; TRAUT, 1941). Na área de cabeça e pescoço, ainda é uma técnica pouco utilizada, talvez, muito em parte, por ser mais recente ou ainda pela falta de conhecimento das suas aplicabilidades por parte dos cirurgiões-dentistas (SILVA et al., 2014).

O reaparecimento do interesse do uso da citologia esfoliativa em Odontologia nos dias atuais se deve aos novos adventos da biologia molecular e à agregação de análises adicionais como citometria e imuno-histoquímica que aumentaram a eficácia da técnica, especialmente para lesões malignas (DOLENS et al., 2007).

Além disso, a citologia esfoliativa apresenta uma série de características que estimulam o seu uso, tais como ser uma técnica fácil de usar, rápida de executar, com desconforto mínimo ao paciente e, o mais importante, com alta especificidade e sensibilidade. Isso tudo contribui para que o diagnóstico possa ser dado com segurança pelos profissionais da saúde, submetendo o paciente a um procedimento simples e que lhe causa menor ansiedade e, muitas vezes, poupando-o de investigações diagnósticas adicionais ou até mesmo tratamentos desnecessários (REMMERBACH et al., 2003; MEHROTRA, 2007)). Características como técnica simples de ser realizada, baixo custo, minimamente invasiva, segura e bem tolerada pelos pacientes são algumas das vantagens mais citadas pela literatura (DOLENS et al., 2007; HAYAMA et al., 2005; LIU et al., 2015; MEHROTRA, 2007;

NAMBIAR; HEGDE; HALLIKERI, 2016; SILVA et al., 2011; UDAYASHANKAR et al., 2016).

A coleta de material citológico em si pode ser realizada por qualquer cirurgião-dentista. Ou seja, não requer a realização de nenhum curso ou especialização adicional. Porém, o principal desafio não é apenas sentir-se seguro para fazê-la, mas sim saber quando ela está indicada (DOLENS et al., 2007; KAZANOWSKA et al., 2014; SHASHIKALA et al., 2015; VIDAL et al., 2011).

No caso das lesões malignas podemos lembrar que o fato das células cancerosas perderem a coesão celular para migrar e invadir os tecidos, também propicia que elas sejam coletadas por CE mais facilmente. Talvez esse seja um dos motivos pelo qual essa técnica tenha alta sensibilidade para este tipo de lesão (MOINFAR, 2012). A CE também demonstra ser uma técnica eficiente para diagnósticos preliminares de lesões suspeitas de malignidade, monitoramento de lesões potencialmente malignizáveis e acompanhamento de sítios que sofreram remoção de tumores (avaliação de possíveis recidivas), além de várias outras condições benignas, conforme abordado anteriormente (KAZANOWSKA; HALON; RADWAN-OCZKO, 2014). Além disso, a CE pode ser indicada para diagnóstico de lesões epiteliais em pacientes que não estejam em condições de ser realizada cirurgia de biópsia (COWPE; LONGMORE; GREEN, 1985) ou ainda também na triagem de pacientes que são considerados de “alto-risco” de desenvolvimento de tumores relacionados às seus hábitos deletérios (SUGERMAN; SAVAGE, 1996).

Em relação à dúvida sobre qual técnica de processamento citológico é a melhor ou mais indicada, ainda tem-se muita discussão dentro da comunidade científica. O método convencional, ou de esfregaço, possibilita a obtenção de uma amostra adequada para análise citológica na grande maioria dos casos (NAVONE et al., 2011; VIDAL et al., 2011) e tem baixo custo (KÄMMERER et al., 2013). Em contrapartida, com este método observa-se maior aglomeração e sobreposição celular e assim como a formação de artefatos como acúmulo de muco, debris e células sanguíneas (NAMBIAR; HEGDE; HALLIKERI, 2016), o que pode dificultar a análise do material.

O método em meio líquido por sua vez, tem como principais qualidades, a distribuição homogênea das células sob a lâmina histológica, redução da formação de grumos celulares e artefatos e, portanto, maior facilidade na leitura da lâmina histológica (MEHROTRA, 2013). Além disso, de uma única coleta pode-se produzir várias lâminas citológicas, as quais podem ser utilizadas não

apenas para análise citológica como também histoquímica e molecular (HAYAMA et al., 2005). Por outro lado, a citologia em meio líquido é mais custosa e requer materiais específicos para a sua coleta e processamento, como o meio líquido comercial e as citocentrífugas, o que pode comprometer o seu uso em alguns casos (NAMBIAR; HEGDE; HALLIKERI, 2016; NAVONE, et al., 2011; SHUKLA et al., 2015).

Apesar de muitos estudos corroborarem com a premissa de que a CE é eficaz como método diagnóstico, há de se reconhecer que, assim como outras técnicas diagnósticas a exemplo da biópsia, é uma técnica que corre o risco de ter obtenção de amostras inadequadas, erros de processamento e interpretação subjetiva dos achados (KAZANOWSKA; HALON; RADWAN-OCZKO, 2014). A título de exemplo, algumas das desvantagens mais citadas pela literatura são obtenções de amostras inadequadas e a grande variação de análise entre observadores (DEY et al., 2016; HAYAMA et al., 2005; KAZANOWSKA; HALON; RADWAN-OCZKO, 2014; NAVONE; PENTENERO; GANDOLFO, 2011). Em conjunto dos inconvenientes citados acima, um estudo de Horowitz e colaboradores (2000) percebeu que o exame citológico não foi bem aceito pelos dentistas em geral e apenas alguns possuem o armamento necessário para o mesmo. Fato este que nos leva a refletir o porquê de uma técnica diagnóstica mais barata, simples e também eficaz ainda ter um uso pouco difundido na Odontologia.

Por fim, é notório que a área relacionada ao diagnóstico está em constante evolução e que juntamente com o advento da citologia esfoliativa estão sendo desenvolvidas outras técnicas ou exames complementares para aumentar a significância e acurácia no diagnóstico citológico. Como exemplo disto, as descobertas mais recentes e importantes foram na área de citomorfologia quantitativa, análise de conteúdo nuclear, marcadores citoquímicos de tumor, análise molecular (MEHROTRA, 2013) e análise de micronúcleos (JAITLEY; et al., 2015). O uso desses tipos de técnica adjuvante promete, no futuro, detectar alterações moleculares antes mesmo que possam ser vistas alterações morfológicas. Ou seja, visiona-se fazer um diagnóstico de uma condição que possa causar alterações na célula, que seja passível de ser reconhecida por meio da simples coloração de Papanicolau e análise em microscopia de luz (OGDEN, 1997) (PÉREZ-SAYÁNSM et al., 2010). Isso, claramente, iria beneficiar tanto os pacientes afetados diretamente por essas enfermidades como todos os outros usuários da mesma estrutura de saúde, pois esta deverá ficar menos sobrecarrega

com casos de maior complexidade graças ao diagnóstico em fase mais inicial/de menor complexidade.

5 CONCLUSÃO

A alta incidência de câncer bucal e de tantas outras enfermidades que podem acometer essa região do corpo é uma realidade tanto no Brasil como do mundo, e o cirurgião-dentista sendo o profissional da saúde que mais analisa esta parte do corpo, tem um papel fundamental no diagnóstico precoce dessas lesões ou alterações de normalidade. A citologia esfoliativa por sua vez, se revela como uma ferramenta útil, senão indispensável, em muitos casos para tal.

Desde o diagnóstico precoce de doenças malignas até o acompanhamento de condições benignas, a CE comprova ser uma prática diagnóstica eficaz e conveniente, desde que haja conhecimento de sua indicação.

Atualmente, o método em si já possui tanto sensibilidade quanto especificidade suficiente para reproduzir resultados diagnósticos satisfatórios, independente do método de processamento. No entanto, uma série de pesquisas científicas que ainda estão em andamento prometem aprimorar ainda mais a técnica ao usá-la em conjunto com um *pool* de análises adjuvantes e, quem sabe em um futuro não muito distante, ser capaz de diagnosticar cada vez mais e melhor as patologias que acometem a cavidade bucal.

REFERÊNCIAS

- AFROGHEH, A. et al. An evaluation of the Shandon Papsin liquid-based oral test using a novel cytologic scoring system. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 113, n. 6, p. 799–807, 2012.
- ALBERTS, B. **Fundamentos da Biologia Celular (Alberts) 3ª Edição.pdf**, 2011.
- ALTARAWNEH, SANDRA; BENCHARIT, SOMPOP; MENDOZA, LUISITO; CURRAN, ALICE; BARROW, DAVID; BARROS, SILVANA; PREISSER, JOHN; LOEWY, ZVI G; GENDREAU, LINDA; OFFENBACHER, S. Clinical and Histological Findings of Denture Stomatitis as Related to Intraoral Colonization Patterns of *C. albicans*, Salivary Flow, and Dry Mouth. **Journal of Prosthodontics**, v. 22, n. 1, p. 13–22, 2014.
- BIBBO, M.; WILBUR, D. C. **Comprehensive Cytopathology**. 2008.
- BRENER, S. et al. Carcinoma de células escamosas bucal : uma revisão de literatura entre o perfil do paciente , estadiamento clínico e tratamento proposto. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 1, p. 63–69, 2007.
- BUCHNER, A.; MERRELL, P. W.; CARPENTER, W. M. Relative frequency of solitary melanocytic lesions of the oral mucosa. p. 550–557, 2004.
- CAMPAGNOLI, EDUARDO BAUML; SANDRIN, RODRIGO; FRANÇA, BEATRIZ HELENA SOTTILE; SASSI, LAURINDO MOACIR; MACHADO, MARIA ANGELA NAVAL; LIMA, A. A. S. DE. Comparação entre a citologia em base líquida e a citologia esfoliativa convencional no diagnóstico de carcinomas da região de cabeça e pescoço. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 11, n. 1, p. 65–71, 2011.
- CHANTZANTONIOU, N. et al. Inception and Development of the Papanicolaou Stain Method. **Acta Cytologica**, 2017.
- COWPE, JG; LONGMORE, RB; GREEN, M. Quantitative exfoliative cytology of normal oral squames: an age, site and sex-related survey. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 78, n. 12, p. 995–1004, 1985.
- DEY, S. et al. Pre-cancer risk assessment in habitual smokers from DIC images of oral exfoliative cells using active contour and SVM analysis. **Tissue and Cell**, v. 16, n. 1, p. 30188–30184, 2016.
- DIAMANTIS, A; MAGIORKINIS, E. Pioneers of exfoliative cytology in the 19th century: The predecessors of George Papanicolaou. **Cytopathology**, v. 25, n. 4, p. 215–224, 2014.
- DOLENS, EDER DA SILVA; NAKAI, FABRICIA VENANCIO DOLENS; PARIZI, JOSE LUIZ SANTOS; ALBORGHETTI, G.

Cytopathology: A Useful Technique for Diagnosing Oral Lesions?: A Systematic Literature Review. **Diagnostic cytopathology**, v. 35, n. 8, p. 525–528, 2007.

FOLSOM, T. C. et al. Oral Exfoliative Study. **Oral Surgery**, v. 33, n. 1, p. 61–72, 1972.

HAYAMA, FABIA H.; MOTTA, ANA CF; SILVA, ANTONIO DE PADUA G; MIGLIARI, D. A. Preparaciones de base líquida vs. citología convencional: Adecuación de las muestras y coincidencia de diagnóstico en lesiones orales. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 10, n. 2, p. 115–122, 2005.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2016.

JAITLEY, SHWETA; AGARWAL; PANKAJ; UPADHYAY, R. Role of oral exfoliative cytology in predicting premalignant potential of oral submucous fibrosis: A short study. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 11, n. 2, p. 471–474, 2015.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Basica 11ed - Junqueira e Carneiro.**, 2008.

KÄMMERER, P. W. et al. Prospective, blinded comparison of cytology and DNA-image cytometry of brush biopsies for early detection of oral malignancy. **Oral Oncology**, v. 49, n. 5, p. 420–426, 2013.

KAZANOWSKA, KRZYSZTOFA; HALON, AGNIESZKA; RADWAN-OCZKO, M. The role and application of exfoliative cytology in the diagnosis of oral mucosa pathology - Contemporary knowledge with review of the literature. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v. 23, n. 2, p. 299–305, 2014.

KRAFTS, K.; PAMBUCCIAN, S. Romanowsky staining in cytopathology: history, advantages and limitations. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 86, n. 2, p. 82–93, 2011.

LIU, YAO; LI, JIANYING; LIU, XIAOYOUNG; LIU; XUDONG; KHAWAR, WAQAAR; ZHANG, XINYAN; WANG, FAN; CHEN, XIAOXIN; SUN, Z. Quantitative risk stratification of oral leukoplakia with exfoliative cytology. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–16, 2015.

LOSS, RAFAEL; SANDRIN, RODRIGO; FRANÇA, BEATRIZ HELENA SOTTILE; AZEVEDO-ALANIS, LUCIANA REIS; GREGIO, ANA MARIA TRINDADE; MACHADO, MARIA ANGELA NAVAL; LIMA, A. A. S. DE. Cytological analysis of the epithelial cells in patients with oral candidiasis. **Mycoses**, v. 54, n. 4, p. 130–135, 2011.

LUCENA, EUDES EULER DE SOUZA; MIRANDA, ALESSANDRA MARINHO; ARAUJO, FABIO ANDREY DA COSTA; GALVÃO, CARLOS AUGUSTO BARBOZA; MEDEIROS, A. M. C. DE. Método de Coleta e a Qualidade do Esfregaço de Mucosa Oral. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilofacial**, v. 5458, n. 11, p. 55–62, 2010.

MCMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid.

Stain Technology, v. 23, n. 3, p. 99–108, 1948.

MEHROTRA, R. The Role of Cytology in Oral Lesions: A Review of Recent Improvements. **Diagnostic cytopathology**, v. 35, n. 8, p. 525–528, 2007.

MEHROTRA, R. **Oral Cytology - A Concise Guide**, 2013.

MOINFAR, F. **Nongynecologic Cytopathology A Practical Guide**. [s.l: s.n.]. v. XXXIII

MULKI, SHAILA; SHETTY, PUSHPARAJ; PAI, P. Oral rinse-based cytology and conventional exfoliative cytology: A comparative study. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 11, n. 1, p. 129–135, 2015.

MULKI, S.; SHETTY, P.; PAI, P. Oral rinse-based cytology and conventional exfoliative cytology: A comparative study. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 11, n. 1, p. 129, 2015.

NAMBIAR, S.; HEGDE, V.; HALLIKERI, K. Improvization of conventional cytology by centrifuged liquid-based cytology in oral exfoliative cytology specimen Abstract Background : Aims : Materials and Methods : Results : Conclusion : Evaluation of Smear Quality Adequate cellularity. **Journal of Cytology**, v. 33, n. 3, p. 115–119, 2016.

NAVONE, ROBERTO; PENTENERO, MONICA; GANDOLFO, S. Liquid-based cytology in oral cavity squamous cell cancer. **Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery**, v. 19, n. 2, p. 77–81, 2011.

NEVILLE, B. W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. [s.l: s.n.].

OGDEN, G. C. J. W. A. Oral exfoliative cytology: review of methods of assessment. **Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology**, v. 26, n. 5, p. 201–205, 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2012.

PAPANICOLAOU, G. N.; TRAUT, H. F. The Diagnostic Value of Vaginal Smears in Carcinoma of the Uterus**This study has been aided by the Commonwealth Fund. Presented before the New York Obstetrical Society, March 11, 1941. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 42, n. 2, p. 193–206, 1941.

PATIL, R. et al. Scrape cytology in rare case of hairy tongue. **Journal of Cytology**, v. 26, n. 2, p. 91, 2009.

PÉREZ-SAYÁNSM, M; SOMOZA-MARTIN, JM; BARROS-ANGUEIRA, F; REBOIRAS-LOPEZ, MD; GANDARA-VILA, P; GANDARA REY, JM; GARCIA-GARCIA, A. Exfoliative cytology for diagnosing oral cancer. **Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission**, v. 85, n. 3, p. 177–187, 2010.

PÉREZ-SAYÁNSM, M; SOMOZA-MARTIN, JM; BARROS-ANGUEIRA, F; REIRAS-LOPEZ, MD; GANDARA-VILA, P;

GANDARA REY, JM; GARCIA-GARCIA, A. Exfoliative cytology for diagnosing oral cancer. **Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission**, v. 85, n. 3, p. 177–187, 2010.

REAGAN, C. M. K. J. W. A Manual of Cytotechnology. **Raven Press**, v. i, n. 1st ed, p. 1–2, 1984.

REAMY, B. V et al. Common Tongue Conditions in Primary Care SORT: KEY RECOMMENDATIONS FOR PRACTICE. v. 81, n. 5, p. 627–634, 2010.

REBOIRAS-LÓPEZ, MD; PEREZ-SAYANS, M; SOMOZA-MARTIN, JM; ANTUNES-LOPEZ, JR; GANDARA-VILA, P; GAYOSO-DIZ, P; GANDARA-REY, JM; GARCIA-GARCIA, A. Comparison of three sampling instruments, Cytobrush, Curette and OralCDx, for liquid-based cytology of the oral mucosa. **Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission**, v. 87, n. 1, p. 51–8, 2012.

REMMERBACH, T. W. et al. Earliest detection of oral cancer using non-invasive brush biopsy including DNA-image-cytometry: report on four cases. **Analytical cellular pathology : the journal of the European Society for Analytical Cellular Pathology**, v. 25, n. 4, p. 159–66, 2003.

RODRÍGUEZ-TOVAR, L. E. et al. Histochemical study of Encephalitozoon cuniculi spores in the kidneys of naturally infected New Zealand rabbits. **Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v. 1–9, n. 1, p. 1040638716668559, 2017.

SCHAART, G. et al. A modified PAS stain combined with immunofluorescence for quantitative analyses of glycogen in muscle sections. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 122, n. 2, p. 161–169, 2004.

SEGURA, IGNACIO GANZALEZ; SECCHI, DANTE; CARRICA, ANDRES; BARELLO, ROSARIO; ARBELO, DARIO; BURGOS, ADRIANA; BRUNOTTO, MABEL; ZARATE, A. M. Exfoliative cytology as a tool for monitoring pre-malignant and malignant lesions based on combined stains and morphometry techniques. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 44, n. 3, p. 178–184, 2015.

SHARBATDARAN, MAJID; ABBASZADEH, HAMID; SIADATI, SEPIDEH; RANAEE, MOHAMMAD; HAJIAN-TILAKI, KARIMOLLAH; RAJABI-MOGHADDAM, M. Assessment of Oral Cytological Features in Smokers and Nonsmokers After Application of Toluidine Blue. **Diagnostic cytopathology**, v. 35, n. 8, p. 525–528, 2007.

SHASHIKALA, R; INDIRA, AP; MANJUNATH, GS; ARATHI RAO, K; AKSHATHA, B. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 7, n. Suppl 2, p. S409–13, 2015.

SHUKLA, SURABHI; EINSTEIN, A; SHUKLA, ABHILASHA;

- MISHRA, D. Comparison of specimen adequacy and smear quality in oral smears prepared by manual liquid-based cytology and conventional methods Satisfactory smears. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 19, n. 3, p. 315–318, 2015.
- SILVA, EULÁLIA MARIA MARTINS DA; BARÃO, VALENTIM ADELINO RICARDO; SANTOS, DANIELA MICHELINE DOS; DELBEN, JULIANA APARECIDA; RIBEIRO, ANA CAROLINA PRADO; GALLO, A. K. G. Principais alterações e doenças bucais que acometem o paciente geriátrico–revisão da literatura. **Odonto**, v. 19, n. 37, p. 39–47, 2011.
- SILVA, W. A. et al. Evaluation of dentists' knowledge of the use of oral exfoliative cytology in clinical practice. **Brazilian Oral Research**, v. 28, n. 1, p. 1–6, 2014.
- SUGERMAN, PHILIP B; SAVAGE, N. W. Exfoliative cytology in clinical oral pathology. **Australian Dental Journal**, v. 41, n. 2, p. 71–74, 1996.
- TASCA, LUMINITA; OSTOR, ANDREW G; BABES, V. History of Gynecologic Pathology XII. Aurel Babes. **International Journal of Gynecological Pathology**, v. 21, p. 198–202, 2002.
- UDAYASHANKAR, U. et al. Evaluation of cytomorphometric changes in tobacco users and diagnosed oral squamous cell carcinoma individuals. **Journal of Cytology**, v. 33, n. 3, p. 125, 2016.
- VIDAL, AKL; CALDAS JUNIOR, AF; MELLO, RJV; BRANDÃO, VRA; LIMA, PA; FIGUEIROA, J. Citologia esfoliativa convencional versus citologia em meio líquido para prevenção e diagnóstico precoce do carcinoma escamo celular (CEC) oral . Conventional Cytology versus liquid-based cytology for prevention and early diagnosis of oral squamous cell. **Odontol. Clín.-Cient**, v. 10, n. 1, p. 31–36, 2011.

ANEXO A

SISTEMA BETHESDA: CRITÉRIOS DE ANÁLISE DE ADEQUAÇÃO DA AMOSTRA

Sistema Bethesda de categorias de adequação de espécimen de 2001		
Satisfatório avaliação	para	<p>Presença de células escamosas satisfatórias</p> <p>Presença ou ausência de células endocervicais ou da zona de transformação.</p> <p>Elementos de obscurecimento (inflamação, sangue, artefato de secagem, outros) podem ser mencionados se 50% a 75% das células epiteliais são obscurecidas</p>
Insatisfatório avaliação	para	<p>Espécime rejeitado ou não processado porque [especificar motivo].</p> <p>As razões podem incluir:</p> <ul style="list-style-type: none"> - falta de identificação do paciente - material não pode ser aceito (ex. lâmina quebrada não passível de ser consertada) <p>ou:</p> <p>Espécime processado e examinado, mas insatisfatório para avaliação de uma anormalidade epitelial porque [especifique razão]. As razões podem incluir:</p> <ul style="list-style-type: none"> - células escamosas insuficientes - elementos de obscurecimento cobrindo mais de 75% das células epiteliais

Adaptado do livro Comprehensive Cytology (BIBBO, M.; WILBUR, 2008)

ANEXO B

**SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO CITOLÓGICA POR
AFROGHEH E COLABORADORES**

Sistema de classificação citológico oral/orofaríngeo	
Adequação de especimen	
Adequado para avaliação	Presença de células basais/parabasais
Inadequado para avaliação	Especificar a razão (ex. elementos obscuros, sem etiqueta de identificação ou lamina fraturada)
Categorização generalista	
A	Normal
B	Reativo*
C	Atípico - provavelmente reativo/baixa intensidade incluindo lesão intrapitelial escamosa
D	Atípico – provavelmente alta intensidade
E	Lesão intraepitelial escamosa e alta intensidade
F	Carcinoma de células escamosas invasivo
G	Outros neoplasmas: especificar
* a classificação de reativo inclui mudanças hiperkeratóticas, inflamatórias, infecciosas, reparativas e pos quimio/radioterapia	

Adaptado do livro Oral Cytology – a concise guide (AFROGHEH et al., 2012; MEHROTRA, 2013)

ANEXO C

SISTEMA BETHESDA DE 2001

TIPO DE AMOSTRA
Indicar amostra coletada pelo método convencional, meio-líquido ou outro
ADEQUAÇÃO DA AMOSTRA
<ul style="list-style-type: none"> Satisfatório para avaliação (descrever presença de aspectos qualitativos)
<ul style="list-style-type: none"> Insatisfatório para avaliação (especificar motivos) <ul style="list-style-type: none"> - amostra rejeitada/não processada (especificar motivos) - amostra processada e examinada, mas insatisfatória para avaliação de anormalidades epiteliais (especificar motivos)
CATEGORIZAÇÃO GENERALISTA
<ul style="list-style-type: none"> Negativo para lesão ou malignidade intraepitelial
<ul style="list-style-type: none"> Outro
<ul style="list-style-type: none"> Anormalidade de células epiteliais
INTERPRETAÇÃO/RESULTADOS
Negativo para lesão ou malignidade intraepitelial
Quando não há evidencias de neoplasia
Organismos: <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Candida spp.</i> , mudança na flora vaginal sugestiva de vaginose, <i>Actinomyces spp.</i> , mudanças celulares associadas ao vírus <i>Herpes simplex</i> .
Outros achados não-neoplásicos: <ul style="list-style-type: none"> reatividade celular associada a inflamação, radiação e dispositivo intrauterino (DIU) células glandulares com modificações pós histerectomia atrofia
Outro
Células endometriais (em mulheres >40 anos) (especificar se “negativo para lesão escamosa intraepitelial)
Anormalidade de células epiteliais
Célula escamosa: <ul style="list-style-type: none"> células escamosas atípicas lesão intraepitelial de células escamosas de baixo grau lesão intraepitelial de células escamosas de alto grau carcinoma de células escamosas
Célula glandular: atípica (endocervical/endometrial/glandular), atípica (endocervical/glandular a favor de neoplasia, adenocarcinoma endocervical in situ, adenocarcinoma (endocervical/endometrial/adenocarcinoma extrauterino/outro não especificado)

Adaptado do livro Comprehensive Cytology (BIBBO, M.; WILBUR, 2008)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 11 dias do mês de outubro de 2017, às 13:30 horas,
em sessão pública no (a) Auditorio B3 - CCS desta Universidade, na presença da
Banca Examinadora presidida pelo Professor

Felipe Perazzo Daltro

e pelos examinadores:

1 - Maria Inês Meurer

2 - Mariana Gouveia Melo Ribeiro

o aluno Anna Carolinne Gartner Garbelotto

apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado:

Citologia Explorativa como Método Diagnóstico em Odonto-
logia.

como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.

Felipe Perazzo Daltro

Presidente da Banca Examinadora

[Assinatura]

Examinador 1

Mariana Gouveia Melo Ribeiro

Examinador 2

Anna Carolinne Gartner Garbelotto

Aluno